Experimentelle Untersuchungen

über

kulturelle und pathogene Eigenschaften verschiedener Streptokokken und deren Verhalten zu chemischen Präparaten.

INAUGURAL-DISSERTATION

WELCHE

ZUR ERLANGUNG DER DOCTORWÜRDE

IN DER

MEDICIN UND CHIRURGIE

MIT ZUSTIMMUNG

DER MEDICINISCHEN FACULTÄT

DER

FRIEDRICH-WILHELMS-UNIVERSITÄT ZU BERLIN

am 29. Juni 1891

NEBST DEN ANGEFÜGTEN THESEN

ÖFFENTLICH VERTEIDIGEN WIRD

DER VERFASSER

Walter von Lingelsheim

aus Bad Wildungen.

OPPONENTEN:

Hr. Dr. med. Schnellen.
- Dr. med. Bornikoel.
- Dr. med. Garbsch.

BERLIN.

Buchdruckerei von Gustav Schade (Otto Francke).

Linienstrasse 158.

I. Verhalten der Streptokokken in Culturen.

Die Untersuchungen, die der folgenden Arbeit zu Grunde liegen, wurden von mir an einem Arbeitsplatze des hiesigen hygienischen Institutes ausgeführt, der mir durch die liebenswürdige Vermittelung von Herrn Stabsarzt Dr. Behring, vom Director des Institutes, Herrn Geheimrath Professor Koch, eingeräumt worden war. Indem ich Herrn Geheimrath Professor Koch für dieses gütige Entgegenkommen meinen ehrfurchtsvollen Dank aussprechen möchte, kann ich nicht umhin, auch zugleich den Gefühlen dankbarer Verehrung gegenüber Herrn Stabsarzt Dr. Behring Ausdruck zu geben, der mich bei meinen Arbeiten fortdauernd in der freundlichsten Weise unterstützte und an keiner Art der Unterweisung es hat fehlen lassen.

Während meine Untersuchungen Anfangs auf das Studium der Organismen des menschlichen Eiters im Allgemeinen gerichtet waren, wandte ich mich später ausschliesslich den Streptokokken zu, da diese mir vor allen noch einer weiteren Aufklärung bedürftig schienen. In der That giebt es wohl kaum noch eine andere Gruppe von Bacterien, die so wichtig, über die so viel geschrieben ist, und über deren Natur und Eigenschaften doch noch so grosse Meinungsverschiedenheiten bestehen, als gerade die der Kettenkokken. In einem Punkte nur begegnen sich die Ansichten fast aller Beobachter, das ist in der Anerkennung der hohen pathogenen Diginität dieser Organismen gegenüber dem menschlichen Körper, in der Annahme, dass dieselben in einer grossen Reihe wichtiger Krankheiten nicht unwesentliche Begleiter, sondern das ätiologische Moment darstellen. Das ist der Eindruck, den man bei der Durchsicht der ziemlich umfangreichen Litteratur über diesen Gegenstand gewinnt.

Schon aus einem verhältnissmässig frühen Entwickelungsstadium der bacteriologischen Wissenschaft finden sich Nachrichten über Kokkenbefunde bei verschiedenartigen Erkrankungen, so bei Erysipelas (Nepveu (1), Hüter (2), bei Pyämie und Puerperalfieber (v. Recklinghausen (3), bei Diphtherie (Tomasi Crudeli (4), Nasiloff (5), Oertel (6). Doch

bleibt es in Rücksicht auf den damaligen Stand der Kenntnisse zweifelhaft, ob es sich bei allen diesen Beobachtungen schon wirklich um die hier in Betracht kommenden Streptokokken gehandelt hat.

Die Epoche der exacten Forschung brach auch für die Streptokokken erst an, nachdem Koch (7) in seiner Lehre über die Aetiologie der Wundinfectionskrankheiten die Wege angegeben und zugleich durch seine Methodik den Untersucher in den Stand gesetzt hatte, dieselben zu verfolgen. Koch (8) ist es auch, dem wir die ersten sicheren Mittheilungen über das constante Vorkommen von Streptokokken bei Erysipelas verdanken. Hieran schloss sich die Arbeit Fehleisen's (9), der ziemlich gleichzeitig und unabhängig von Koch Streptokokken bei Erysipelas nachwies und zugleich durch Cultur und Impfung auf Mensch und Thier den unumstösslichen Beweis erbrachte, dass in den gefundenen Organismen auch das ätiologische Moment des Erysipels gefunden sei.

Von da an ist die Streptokokkenlitteratur in ein schnelleres Tempo gekommen. Es wurden nicht nur die Angaben Fehleisen's von anderer Seite bestätigt, sondern man suchte nun auch wieder auf Grund der gemachten Erfahrungen bei solchen Krankheiten nach Streptokokken, die schon früher damit in Zusammenhang gebracht waren. So veröffentlichte Doléris (10) eine Arbeit über die niederen Organismen bei Puerperalfieber, in der auch über Streptokokkenbefunde des weiteren berichtet wird. Ziemlich gleichzeitig stellte Ogston (11) durch mikroskopische Untersuchung Streptokokken im Abscesseiter fest. Doch dauerte es immerhin noch fast fünf Jahre nach der epochemachenden Entdeckung Fehleisen's, bis es Rosenbach (12) und unabhängig von diesem Passet (13) gelang, auch die Streptokokken des Eiters durch Cultur zu isoliren und ihre pathogene Bedeutung durch das Thierexperiment festzustellen. Ziemlich in dieselbe Zeit fallen dann auch die Mittheilungen von Garré (14), der Streptokokken gerade in einer Reihe schwerer phlegmonöser Processe nachwies. Immer mehr bricht sich die Anschauung Bahn, dass gerade Streptokokken es sind, die bei den schweren Formen der Wundinfection die entscheidende Rolle spielen. So hält Cushing (15) dieselben für die häufigste Ursache der puerperalen Erkrankungen. Diesen Standpunkt schränkt Besser (16) drei Jahre später etwas ein, indem er auf Grund seiner bacteriologischen Untersuchungen zu dem Schlusse kommt, dass typische Pyämie ebenso gut durch Staphylokokken als Streptokokken bedingt werden kann, dass dagegen typische Septicämie ausschliesslich auf Steptokokkeninfection zurückzuführen sei. Bemerkenswerth dürfte vielleicht noch die Mittheiluug von Schulz (17) sein, wonach Streptokokken auch im Eiter von Furunkeln, der im Allgemeinen doch als

die ausschliessliche Domäne der Staphylokokken betrachtet wird, vorkommen sollen. Ausserdem sind noch häufig Streptokokken gefunden worden bei Eiterungen im Gefolge anderer Krankheiten, so nach Abdominaltyphus Dunin (18), bei Pyothorax auf tuberculöser Grundlage u. s. w.

Vor allem sind es aber noch zwei Krankheitsgebiete, die schon ziemlich früh mit Streptokokkeninfection in Zusammenhang gebracht wurden, das ist die Diphtherie und der Scharlach. Aus der ziemlich umfangreichen Litteratur über diesen Gegenstand, aus der ich nur die Arbeiten von Klebs (19), Löffler (20), Fränkel und Freudenberg (21), Thaon (22), Rasskin (23) erwähne, geht jedenfalls so viel hervor, dass nach den Ansichten namhafter Autoren namentlich für die schweren Formen von Secundäraffectionen nach Scharlach und Diphtherie die Streptokokken das ätiologische Moment abgeben. Zu erwähnen wäre auch vielleicht noch, dass auf der Ausstellnng des internationalen medicinischen Congresses in der Abtheilung des Kaiserlichen Gesundheitsamtes ein Streptococcus conglomeratus ausgestellt war, der aus der Milz einer Scharlachleiche gezüchtet war.

In neuester Zeit war es dann noch besonders die grosse Influenzaepidemie, welche die Streptokokkenlitteratur um ein beträchtliches bereichert hat. Es seien hier zunächst erwähnt die Arbeiten von Ribbert (24) und Finkler (25), welch' letzterer namentlich die Influenzaepidemieen mit Streptokokkeninvasion in Zusammenhang brachte. Von ähnlichen Befunden berichten Duponchel, Vaillard und Vincent, nur mit dem Unterschiede, dass diesen der gefundene Streptococcus mit dem des Erysipels identisch erschien, während die erstgenannten Forscher den Streptococcus pyogenes vor sich zu haben glaubten. Einen nach Ansicht des Autors neuen Streptococcus züchtete Friedrich (26) aus dem katarrhalischen Secrete der Athmungsorgane bei Influenza.

Wäre hiermit die kurze Uebersicht über die Streptokokkenlitteratur vom klinischen Standpunkte aus geschlossen, so blieben die Mittheilungen übrig, in denen uns über Streptrokokkenbefunde berichtet wird ohne Bezugnahme auf eine ätiologische Bedeutung zu einer menschlichen Krankheit. So züchtete Flügge (27) aus den nekrotischen Herden einer leukämischen Milz einen Streptococcus pyogenes malignus, der sich vor den Streptokokken des Eiters durch seine Malignität gegenüber Mäusen und Kaninchen auszeichnet. Nicolaier und Guarneri (28) züchteten aus unreiner Gartenerde einen Streptococcus septicus, der sich gleichfalls als sehr virulent gegen Mäuse erwies. Auch im menschlichen Speichel sind Streptokokken häufig angetroffen, so von Netter (29), der sie in 5% der Fälle

fand, ferner von Biondi (30), der aus Speichel einen Streptococcus septicopyämicus züchtete u. s. w.

Die Frage, die uns bei der Durchsicht dieses so reichhaltigen litterarischen Materiales in erster Linie interessirt, ist die, ob es sich bei den bisher gefundenen Streptokokken nur um eine einzige Art handelt, die vielleicht nur je nach der Eingangspforte, nach der Quantität des Infectionsstoffes und nach der localen und allgemeinen Disposition des befallenen Individuums so verschiedenartige Effecte herbeiführt — eine Anschauung, wie sie z. B. Ernst (31) für die pyogenen Bacterien vertritt — oder ob es sich bei den verschiedenen Affectionen um verschiedene wohl definirte Arten handelt, deren Trennung auch experimentell möglich ist. Mag nun die eine oder die andere Anschauung zur Zeit mehr Vertreter zählen, soviel lässt sich wohl mit Sicherheit behaupten, dass der strikte und allgemein anerkannte Nachweis von constanten und experimentell demonstrirbaren Unterschieden zwischen auch nur zwei Streptokokkenarten bis dahin nicht erbracht worden ist.

Unter diesen Umständen schien es mir wohl der Mühe werth zu sein, unter Vernachlässigung der übrigen Eiterorganismen die Streptokokken nochmals einer Prüfung nach ihren culturellen und biochemischen Eigenschaften sowie nach ihrem Verhalten gegen den Thierkörper zu prüfen. Gelegentlich meiner Thierexperimente glaubte ich, auch die in neuester Zeit gemachten Erfahrungen über Immunisirung nicht vernachlässigen zu dürfen. Die von mir nach dieser Richtung gemachten Beobachtungen finden sich, soweit sie ein Interesse für die ganze Frage beanspruchen dürften, an entsprechender Stelle aufgeführt.

Der Erörterung dieser Fragen habe ich dann noch einen Abschnitt über Entwickelungshemmung und Abtödtung der Streptokokken durch chemische Agentien angefügt, nicht nur, weil die Sache praktisch wichtig erschien, sondern auch, weil meines Wissens keine genaueren Untersuchungen hierüber existiren. Die Desinfectionsarbeiten beispielsweise von Koch (32), Gärtner und Plagge (33), Behring (34) berücksichtigen entweder die Streptokokken überhaupt nicht oder nur für einige gerade praktisch wichtige Präparate.

Das meinen Untersuchungen zu Grunde liegende Material an Streptokokken habe ich in der folgenden Tabelle A zusammengestellt. In der Columne 1 derselben finden sich die Streptokokken mit Zahlen von 7 bis 19 bezeichnet. Was diese Bezeichnungen betrifft, so will ich bemerken, dass schon früher im hiesigen hygienischen Institute sieben ihrer Herkunft nach verschiedene Streptokokken gezüchtet und mit den Zahlen von 1 bis 7 unterschieden wurden. Dieser Umstand, sowie die

Absicht, nicht durch Beifügung einer anderen Bezeichnung bestimmte Eigenschaften von vornherein meinen Streptokokken zu prävindiciren, war der Grund, dass ich die Zahlen zunächst zur Unterscheidung beibehielt. Die Columne 2 enthält dann Angaben über die Zeit, in der der betreffende Streptococcus zuerst zur Beobachtung kam, und die Columne 3 den Fundort.

Tabelle A.

1	2	3
Bezeichnung der Streptokokken	Datum der ersten Beobachtung	Angabe des Fundortes
Streptococcus erysipelatis	—	Sammlung des hygienischen Instituts.
„ pyogenes	—	
„ 7	—	
„ 8	Januar 1890	Mundspeichel eines gesunden Menschen.
„ 9	„ 1890	
„ 10	Februar 1890	Altes Rinderblutserum.
„ 11	März 1890	Pleuraexsudat eines Meerschw.
„ 12	Juni 1890	Diphteriemembranen.
„ 13	„ 1890	
„ 14	„ 1890	
„ 15	August 1890	Diphteriemembranen.
„ 16	December 1890	Alte Pyocyaneuscultur.
„ 17	„ 1890	Phlegmone des Oberschenkels.
„ 18	Januar 1891	Gesichtserysipel.
„ 19	„ 1891	Alte Diphtheriecultur.

Ueber die Methoden der Reincultivirung der einzelnen in der Tabelle A aufgeführten Streptokokken möchte ich noch kurz Folgendes bemerken.

In den Besitz des Streptococcus 9 gelangte ich in der Weise, dass ich einer weissen Maus 0.3 ccm Mundspeichel eines gesunden Menschen injicirte. Von dem Blute des nach zwei Tagen verendeten Thieres wurden Gelatineplattenculturen angelegt. Auf diesen erschienen nach Verlauf von drei Tagen kleine graugelbliche Colonieen, die sich bei näherer Untersuchung als aus Streptokokken bestehend erwiesen. Aus demselben Speichel wurde der Streptococcus 8 vermittels des Plattenverfahrens isolirt.

Die Streptokokken 12, 13, 14 stammen aus den Pseudomembranen, die bei Diphtherie des Rachens vermittels sterilisirter Cürette abgenommen waren. Dieselben wurden in der bekannten Weise auf verschiedene Agarröhrchen nacheinander ausgestrichen. Nach 24 stündigem Aufenthalte der Röhrchen im Brütschranke zeigten sich die schrägen Agarflächen wie übersät mit Streptokokkencolonieen, zwischen denen die wohl vorhandenen

Diphtheriebacillencolonieen nicht nachweisbar waren. Aus diesen Streptokokkencolonieen wurde dann eine einzelne herausgefischt und durch Ausgiessen von Gelatineplatten der Charakter als Reincultur festgestellt.

Der Streptococcus 15 wurde vermittels des Plattenverfahrens aus einer Diphtheriemembran isolirt, die ausserdem noch reichlich Diphtheriebacillen enthielt.

Aus einer schweren, schnell letal verlaufenden Phlegmone des Oberschenkels, die sich an eine Verletzung anschloss, stammt der Streptococcus 17. Ein Stückchen der phlegmonösen Hautpartie unter entsprechenden Cautelen excidirt und in Gelatine gebracht, liess in seiner Umgebung nach Verlauf von drei Tagen und bei einer Temperatur zwischen 18 und 22° C. zahlreiche Streptokokkencolonieen erscheinen.

In ganz ähnlicher Weise wurde der Streptococcus 18 aus einem Stückchen der Randzone eines Gesichtserysipelas erhalten.

Die Streptokokken 10, 16, 19, von denen sich die beiden letzteren als Verunreinigungen anderer Culturen, und zwar 16 einer Agarpyocyaneus, 19 einer Diphtheriecultur vorfanden, wurden in der gewöhnlichen Weise durch das Plattenverfahren isolirt, resp. ihre Reinheit durch dasselbe festgestellt.

Mikroskopisches Verhalten.

Zum Studium des mikroskopischen Verhaltens eignen sich am besten die Bouillonculturen, in denen sich das charakteristische Kettenwachsthum zu vollster Deutlichkeit entfaltet. Weder der feste Nährboden, noch der Thierkörper liefern nach dieser Richtung so schöne Präparate, als gerade die Bouilloncultur.

Untersuchen wir z. B. einen Tropfen von der Bouilloncultur des in der Tabelle A als Streptococcus 9 bezeichneten Organismus im hohlen Objectträger, so gewahren wir hier die bekannten charakteristischen Kettenformen. Bisweilen erreichen die Ketten eine sehr beträchtliche Länge und gehören solche von fünfzig und mehr Kokken nicht zu den Ausnahmen. Sehr häufig präsentiren sie sich in dichten Conglomeraten, die in ihrem Innern nichts von der charakteristischen Reihenanordnung verrathen. Diese ist dann nur deutlich in den medusenartig vom Rande der Conglomerae ausgehenden Ausläufern zu beobachten. Auf die Neigung zur Conglomeratbildung, die sich auch makroskopisch in den Bouilloncultur en zu erkennen giebt, werde ich noch später zurückzukommen haben.

Die Gestalt der einzelnen Kokken variirt etwas; meist nicht ganz rund, reihen sie sich bei den von mir beobachteten Streptokokkenarten stets mit ihren breiten Seiten nebeneinander. Hierbei tritt eine Anord-

nung zu Diplokokken innerhalb der Ketten häufig deutlich hervor. Die Grösse der Kokken schwankt zwischen 0.3 bis 0.5 μ. Grössenunterschiede zwischen den Kokken in demselben Präparate habe ich nur bei ganz alten Culturen beobachten können. Eigenbewegungen der Kokken oder Ketten habe ich niemals wahrnehmen können.

Untersucht man statt im hängenden Tropfen im gefärbten Präparate, so zeigen sich im ganzen auch hier die eben angegebenen Verhältnisse, manches tritt sogar entschieden deutlicher hervor.

Ein ganz ähnliches mikroskopisches Verhalten wie der Streptococcus 9 zeigen die in der Tabelle A als Streptococcus pyogenes — 11, 12, 13, 14, 15, 17, 18 aufgeführten Organismen. Die Streptokokken des Erysipels liessen nach der Richtung gewisse Differenzen erkennen, als sie entschieden weniger Neigung zu der oben geschilderten Conglomeratbildung verriethen.

Dagegen erhalten wir ganz andere mikroskopische Bilder bei Betrachtung des in der Tabelle als Streptococcus 8 aufgeführten Organismus. Wir gewahren hier Kokken, die, abgesehen von der etwas beträchtlicheren Grösse, sich nicht von denen unterscheiden, die wir bei dem Streptococcus 9 u. s. w. kennen lernten, die aber durch eine sehr geringe Neigung zur Kettenbildung ausgezeichnet sind. Waren dort Ketten von höherer Gliederzahl die Regel, so sind sie hier die Ausnahme. Ketten, die 8 bis 10 Kokken enthalten, sind schon ziemlich selten. Dahingegen finden sich recht viele Diplokokken und auch einzelne Kokken vor. Von Eigenbewegung ist auch hier bei der Untersuchung im hängenden Tropfen nichts wahrnehmbar.

Noch abweichender von den zuerst beschriebenen Streptokokken verhält sich seinem mikroskopischen Aussehen nach der Streptococcus 7 meiner Tabelle. Es ist dies der von Doehle als Antagonist des Milzbrandes beschriebene Organismus. Hier sind selbst die kurzen Ketten eine Ausnahme, Diplokokken die Regel, so dass die Bezeichnung als Streptococcus vielleicht etwas gewagt erscheinen kann. Um so mehr sind hier Zweifel berechtigt, als dieser Organismus auch auf den später zu betrachtenden Serumnährboden keine charakteristischen Kettenbildungen liefert.

Jedenfalls wird es schon nach den bisherigen Betrachtungen gerechtfertigt erscheinen, nicht nur den Streptococcus 7, sondern auch den Streptococcus 8 und die sich mikroskopisch gleich verhaltenden Streptokokken 10, 16, 19 als besondere Arten von den übrigen zu trennen und sie als Streptococcus brevis den anderen Streptococcus longus gegenüber zu stellen. Die Berechtigung einer solchen Unterscheidung wird sich noch evidenter bei der späteren Betrachtung der culturellen und pathogenen Eigenschaften ergeben.

Verhalten der Streptokokken in Culturen.

Die Nährböden, mit denen ich gearbeitet habe, waren zum Theil die heute allgemein üblichen, also Fleischwasser mit Zusatz von einem Procent Pepton und einem halben Procent Kochsalz als Bouillon, ferner Fleischwasser mit denselben Zusätzen und einem Gehalte von einem Procent Agar, resp. 10 bis 15 Procent Gelatine als feste Nährsubstrate. Ausserdem wurden Zusätze von Traubenzucker 2 Procent, ameisensaurem Natron $^1/_2$ Procent, Glycerin 2 bis 5 Procent versucht. Auch der Peptongehalt wurde für besondere Zwecke zwischen einem halben und fünf Procent variirt. Ferner habe ich verschiedene Blutserumarten im flüssigen und erstarrten Zustande mit und ohne Zusatz anderweitiger Stoffe zu Züchtungszwecken verwendet, und kann ich manche derselben z. B. Kaninchenserum für Streptokokken sehr empfehlen.

Besondere Sorgfalt habe ich auf den Titer meiner Nährsubstrate gelegt. Ich habe mich nicht einfach mit der Constatirung der alkalischen Reaction begnügt, sondern habe für jeden Nährboden auch den Grad der Alkalescenz titrimetrisch festgestellt, was ja nach der von Behring geübten Methode der Titrirung eiweisshaltiger Flüssigkeiten nicht nur sehr einfach, sondern auch mit ziemlicher Genauigkeit ausführbar ist.

Meine Nährböden, abgesehen von den Blutserumarten, enthielten, falls ich nicht für besondere Zwecke hiervon abwich, auf das Liter berechnet nie mehr als 7.5 ccm und nie weniger als 5 ccm Normallauge. Annähernd richtig trifft man dies Verhältniss, wenn man das Fleischwasser nicht wie üblich mit concentrirter Sodalösung bis zur schwach alkalischen Reaction versetzt, sondern auf das Liter Fleischwasser 25 ccm Normalnatronlauge zusetzt, ein Verfahren, was auch im Interesse der Einfachheit zu empfehlen ist.

Für das Studium der culturellen Eigenschaften kommen in erster Linie die flüssigen Nährböden in Betracht, nicht nur, weil sich auf ihnen entschieden das üppigste Wachsthum entfaltet, sondern auch weil sie diagnostisch am meisten verwerthbar sind.

In der That sind wir durch die alleinige Züchtung eines Streptococcus auf der gewöhnlichen Nährbouillon ohne jede mikroskopische Untersuchung im Stande zu entscheiden, mit welcher der oben aufgestellten Gruppen von Streptokokken wir es zu thun haben, mit anderen Worten, ob es sich um einen Streptococcus longus oder brevis handelt. Der erstere hat nämlich die Eigenthümlichkeit, seine Nährbouillon stets klar zu lassen, während der letztere dieselbe constant gleichmässig trübt.

Es kann allerdings auch bei frischen Culturen des Streptococcus lon-

gus, namentlich des Streptococcus longus erysipelatis, vorkommen, dass leichte Wölkchen in den oberen Flüssigkeitsschichten schweben, aber nie findet sich diese diffuse Trübung, die bei den Bouillonculturen des Streptococcus brevis die ausnahmslose Regel ist. Hier setzen sich erst nach Tagen, bisweilen erst nach Wochen die Pilzmassen am Boden des Culturgefässes ab; ein leichtes Schütteln ist dann wieder ausreichend, um Tage lang andauernde Trübungen zu veranlassen.

Dies so leicht anwendbare diagnostische Hülfsmittel kann besonders da von Werth sein, und ist es mir wiederholt schon gewesen, wo sich in offenen Abscessen, auf Impf- und Injectionsstellen, resp. in davon angelegten Culturen Streptokokken vorfinden, deren Bedeutung doch in jedem Falle einer Aufklärung bedarf. Die Bouilloncultur belehrt uns hier ohne jedes umständliche und zeitraubende Thierexperiment, ob wir es mit einem Streptococcus brevis oder longus zu thun haben, oder was, wie wir später sehen werden, dasselbe bedeutet, mit einem weit verbreiteten Saprophyten oder einem wenigstens für gewisse Thiergattungen pathogenen Organismus.

Eine Erscheinung, die man häufig in den Bouillonculturen des Streptococcus longus beobachten kann, ist das Wachsthum der Streptokokken in mehr oder weniger consistenten Flöckchen oder Bröckeln, die auch bei stärkerem Schütteln nur wenig Neigung haben, sich zu zertheilen. In besonders starkem Maasse besass z. B. der Streptococcus longus 9 der Tabelle diese Eigenthümlichkeit, so dass ich Anfangs Mangels anderer Erfahrungen in Versuchung war, hierin die morphologische Besonderheit eines Streptococcus „conglomeratus“ zu suchen. Später jedoch überzeugte ich mich, dass einerseits die gleiche Neigung zur Bildung von Conglomeraten auch bei anderen Streptokokken vorkommt, und dass andererseits diese Eigenthümlichkeit ohne wesentliche Aenderung der sonstigen Beschaffenheit bis zu einem gewissen Grade sich verlieren kann.

Immerhin lässt sich aber doch soviel mit Sicherheit sagen, dass der Streptococcus erysipelatis die geringste Neigung zur Conglomeratbildung zeigte, die grösste dagegen der Streptococcus longus 9 und die übrigen für Thiere sehr pathogenen Streptokokken.

Im Allgemeinen fand ich ausserdem mehr Neigung zur Conglomeratbildung bei frisch aus dem Thierkörper gezüchteten Streptokokken, als bei solchen, die schon lange auf künstlichen Nährböden gehalten waren. Ihr Vorhandensein habe ich immer als ein für Lebensfähigkeit und namentlich Virulenz günstiges Zeichen angesehen.

Von ziemlich beträchtlichem Einflusse auf die Wachsthumsenergie der Streptokokken ist die Reaction der Nährböden.

Ich arbeitete im Allgemeinen, wie schon mitgetheilt, mit Nährböden von einem Alkaligehalte gleich 5 bis $7^1/_2$ ccm Normallauge pro Liter, die sich bei sonstiger guter Beschaffenheit als recht günstig erwiesen. Eine gewisse Menge Alkali ist dem Streptokokkenwachsthum sehr förderlich, während Säurezusatz schon in ganz geringen Mengen die Entwickelung des Streptococcus longus beeinträchtigt, in etwas grösseren es aufhebt. Zahlenmässige Angaben hierüber werden später in Tabelle C folgen.

Bekanntlich haben manche Bacterien die Fähigkeit, auch auf einer stark verdünnten Bouillon üppig zu gedeihen. Nach dieser Richtung hin angestellte Versuche ergaben, dass der Streptococcus longus 9 schon bei einer dreifachen Verdünnung der gewöhnlichen Nährbouillon sehr spärlich wächst im Gegensatze zu allen übrigen Streptokokken. Bei einer fünffachen Verdünnung zeigen auch die übrigen lange Ketten bildenden Streptokokken nur ein sehr spärliches Fortkommen, während die kurze Ketten bildenden noch üppig gedeihen und selbst bei zehnfacher Verdünnung der Bouillon noch ausreichende Existenzverhältnisse finden.

Sehr zweckmässig erwies sich für die Herstellung kräftiger Culturen ein erhöhter Peptonzusatz. Auch Zusatz von Traubenzucker beeinflusst das Wachsthum im günstigen Sinne. Eine Bouillon mit einem Gehalt von drei Procent Pepton und zwei Procent Traubenzucker giebt einen ausgezeichnet günstigen Nährboden für alle Arten von Streptokokken ab.

Zum Schluss bemerke ich noch, dass in gewöhnlicher Nährbouillon nach 24- bis 36stündigem Aufenthalte bei Brüttemperatur das Wachsthum der Streptokokken abgeschlossen ist. Wenigstens konnte ich auf einer solchen Bouillon, wenn sie vorsichtig abpipettirt und von Neuem geimpft wurde, kein Wachsthum mehr constatiren.

Die zweite Categorie meiner flüssigen Nährböden bestand aus verschiedenen Serumarten. Ausser mit Rinderserum arbeitete ich mit Schweine-, Kaninchen- und Rattenserum. Die beiden ersteren waren acht Tage in der üblichen Weise sterilisirt, während ich mich bei den beiden letzteren Arten auf Constatirung der Keimfreiheit beschränkte, nachdem dieselben 48 Stunden der Brüttemperatur ausgesetzt waren.

Bekannt ist, dass auf Rinderblutserum die Streptokokken des Erysipels und der Phlegmone gut gedeihen. Dasselbe konnte ich in Bezug auf sämmtliche übrigen von mir untersuchten Streptokokken constatiren mit Ausnahme des Streptococcus longus 9, der niemals darin ein Fortkommen zeigte. Das Wachsthum der übrigen lange Ketten bildenden Streptokokken ist in Rinderblutserum ganz ähnlich wie in Bouillon, d. h. Bildung langer Ketten ohne jede Trübung des Substrates.

Ein ganz anderes Verhalten als in Bouillon zeigen dahingegen die

kurze Ketten bildenden Streptokokken im Rinderblutserum. Zunächst zeigt sich schon eine makroskopisch sichtbare Verschiedenheit. Die Serumcultur zeigt nämlich keine Spur von Trübung; die Pilzmassen ruhen wie beim Streptococcus longus am Boden des Culturgefässes. Wichtiger jedoch und auffallender als dies Verhalten, welches in ähnlicher Weise auch manche andere Organismen wie der Streptococcus pyogenes zeigen, ist eine Aenderung der morphologischen Charaktere.

Wir gewahren nämlich bei mikroskopischer Betrachtung einer solchen Serumcultur nichts von Diplokokken und Einzelkokken, wie sie die Bouilloncultur in grösster Massenhaftigkeit zeigt, sondern wir sehen die Kokken sämmtlich in langen schönen Ketten angeordnet, die dann selbst häufig wieder zu Conglomeraten zusammentreten. Eine Unterscheidung von einer Serumcultur des Streptococcus longus ist jetzt kaum möglich.

Dieser Befund ist in so fern besonders von grosser Wichtigkeit, als er keinen Zweifel mehr über die Zugehörigkeit der in Rede stehenden Organismen zu den Streptokokken zulässt.

Ein durchaus ähnliches Verhalten wie das eben beschriebene zeigen die Streptokokken auch im Kaninchenserum, auf dem aber auch der Streptococcus 9 üppig gedeiht. Auch Rattenserum erwies sich als ein ziemlich günstiger Nährboden. Dagegen konnte ich auf dem mir zur Verfügung stehenden Schweineserum kein nennenswerthes Wachsthum bei sämmtlichen Streptokokken constatiren.

Die folgende Tabelle B soll eine Uebersicht über die Wachsthumsverhältnisse der von mir untersuchten Streptokokken in den verschiedenen Serumarten geben. Die darin zur Verwendung kommenden Zeichen haben dieselbe Bedeutung wie in den Behring'schen Tabellen über die entwickelungshemmenden Wirkungen chemischer Präparate.

Tabelle B.

Wachsthums-Uebersicht der Streptokokken in verschiedenen Serumarten.

1.	2.	3.	4.	5.	6.
Nr.	Streptococcus	Rinderserum	Schweine-serum	Kaninchen-serum	Rattenserum
1	Streptococcus 8	+	+*	+	+*
2	„ 9	—	—	+	+*
3	„ 12	+	—	+	+
4	„ 15	+	—	+	vacat
5	„ 17	+*	—	+	„
6	„ 18	+	—	+	„

Es bedeutet + reichlich gewachsen, +* ziemlich reichlich gewachsen, +** spärlich gewachsen, — nicht gewachsen.

Es blieb also das Wachsthum aus in Rinderblutserum beim Streptococcus 9, in Schweineserum bei sämmtlichen lange Ketten bildenden Streptokokken.

Es fragte sich nun, worin der Grund für diese Erscheinung zu suchen sei, ob in einer entwickelungshemmenden resp. abtödtenden Wirkung dieser Serumarten auf die genannten Streptokokken, etwa wie dies für das Rattenserum in Bezug auf Milzbrand seiner Zeit von Behring nachgewiesen wurde, oder in einer mangelhaften Erfüllung der für die Vermehrung erforderlichen Bedingungen.

Im letzteren Falle stand zu erwarten, dass ein gewisser Bouillonzusatz zum Serum Abhülfe schaffte. In der That zeigte es sich nun, dass der Streptococcus 9 gut gedieh, wenn man zu 3 Theilen Rinderserum einen Theil gewöhnlicher Bouillon zusetzte. Durch blossen Zusatz von sterilisirtem Wasser liess sich der genannte Effect nicht erzielen.

Anders verhielt sich jedoch das Schweineserum. Auch durch Zusatz von Bouillon zu gleichen Theilen blieb noch bei den lange Ketten bildenden Streptokokken das Wachsthum aus, und erst bei einem Verhältniss von 4 Theilen Bouillon zu 1 Theil Serum waren die Bedingungen für eine reichlichere Vermehrung gegeben.

Einen noch für manche Zwecke ganz günstigen Nährboden giebt das mit Wasser um das Zehnfache verdünnte, im strömenden Dampfe sterilisirte Rinderserum ab. Der Streptococcus brevis wächst darin noch ganz gut, hat aber die ihm im unverdünntem Serum zukommende morphologische Eigenthümlichkeit der langen Kettenbildung wieder abgelegt und nähert sich wieder in seinem Aussehen den für die Bouilloncultur charakteristischen Formen. Es finden sich wieder zahlreiche Diplokokken, während die Zahl der langen Ketten abgenommen hat. Wir haben es also bei diesen Organismen in der Hand, willkürlich durch Zusammensetzung des Nährbodens vorübergehende morphologische Veränderungen hervorzurufen.

Während so die Culturversuche auf den flüssigen Nährböden manches Interessante und Charakteristische erkennen lassen, zeichnen sich die Wachsthumsverhältnisse auf den festen Nährböden im Allgemeinen durch grössere Monotonie aus. Selbst die Unterscheidung der auf den flüssigen Nährböden so leicht erkennbaren Gruppen der Streptokokken longus und brevis kann hier auf Schwierigkeiten stossen.

Was zunächst die Wachsthumsverhältnisse in der Agar- und Gelatineplatte betrifft, so präsentiren sich bekanntlich hier die Streptokokken in gelblichen, punktförmigen, die Gelatine nicht verflüssigenden Colonieen, die bei mikroskopischer Betrachtung einen leichten Chagrin zeigen. Liegt

die Colonie isolirt, so hat sie eine fast vollkommen runde Gestalt, während sie natürlich entsprechend unregelmässige Formen annimmt, wenn sie durch Confluenz mehrerer entstanden ist.

Diese unregelmässigen Formen gewahrt man meist, wenn man aus Culturen übergeimpft hat, in denen die Kokken zu ziemlich festen Verbänden zusammenhingen, also vor Allem aus Bouilloncultureu. Hat man dagegen Blut oder Organstückchen zur Impfung benutzt, so ist die runde Form die Regel, da im Thierkörper die Neigung zur Kettenbildung und zur Bildung von festeren Conglomeraten viel weniger als in Culturen ausgesprochen ist.

Der Rand der Colonieen erscheint bei schwacher Vergrösserung glatt, bei stärkerer durch hervorragende Ketten etwas gezähnelt. Doch findet sich diese Unebenheit des Randes hauptsächlich bei den lange Ketten bildenden Streptokokken, gar nicht oder nur sehr wenig bei den Colonieen des Streptococcus brevis. Ausserdem erreichen die letzteren eine etwas beträchlichere Grösse (0.75 bis 1 mm) und zeigen nur selten die durch Confluenz mehrerer Colonieen bedingten unregelmässigen Formen, eine Folge der geringen Neigung dieser Kokken zur Kettenbildung.

In der Agarplatte tritt die beschriebene Entwickelung meist schon nach 24- bis 36 stündigem Aufenthalt bei Brüttemperatur ein. Auf der bei 18 bis 22° C. gehaltenen Gelatineplatte dauert es etwas länger, bis sich die Colonieen zu makroskpisch sichtbarer Grösse entwickelt haben.

Am schnellsten wuchs der Streptococcus brevis, am langsamsten die hochpathogenen Streptokokken der lange Ketten bildenden Gruppe. Auch bei diesen zeigen sich wieder Unterschiede, weniger jedoch nach der Richtung, dass die eine Art unter allen Umständen früher makroskopisch sichtbar wurde als die andere, als nach der Richtung, dass eine Art, die schon lange auf künstlichem Nährboden gezüchtigt war, sich ceteris paribus durchschnittlich auf der Gelatine schneller entwickelte, als wenn sie direct aus dem Thierkörper überimpft worden war. Es ist also nicht gerechtfertigt, aus der Entwickelungszeit in Gelatine — Berücksichtigung der Temperatur dabei als selbstverständlich angenommen — diagnostische Schlüsse ziehen zu wollen.

Im Allgemeinen fand ich, dass auf der bei 18 bis 22° C. gehaltenen Gelatineplatte schon nach 24 Stunden die Colonieen des Streptcoccus brevis als Pünktchen sichtbar wurden, nach 36 bis 48 Stunden erst die Colonieen des Streptococcus longus und zwar auch nur dann, wenn als Impfmaterial schon Culturen benutzt wurden. Dahingegen konnte es 3 und 4 Tage dauern, bevor ein makroskopisches Wachsthum constatirt

werden konnte, wenn direct vom Thierkörper abgeimpft worden war, und dem Durchgang durch den Thierkörper noch keine längere Cultivirung auf künstlichen Nährböden vorangegangen war.

Etwas ausgesprochenere Unterschiede als in der Platte manifestiren sich in den Strich- und Stichculturen auf Agar und Gelatine. Leider sind jedoch auch diese Differenzen nur zur Unterscheidung der beiden aufgestellten Hauptgruppen zu verwerthen, nicht etwa zur sicheren Unterscheidung von besonderen Arten innerhalb dieser Gruppen. Trotz aller Bemühungen hat es bis jetzt nicht gelingen wollen, die pathogenen Streptokokken nach ihrem culturellen Verhalten auf festen Nährböden zu sondern, nachdem sich die Angaben der ersten Forscher, die uns über krankheitserregende Kettenkokken berichteten, als nicht stichhaltig nach dieser Richtung erwiesen haben.

Im Strich auf die schräge Agarfläche verimpft und 24 bis 48 Stunden bei Brüttemperatur gehalten, wachsen die Streptokokken bekanntlich in Colonieen aus, die bald als kleine graugelbliche, runde, schwach erhabene Auflagerungen längs des ganzen Impfstrichs noch scharf differenzirbar bleiben, bald in ihrer Gesammtheit einen mehr continuirlichen Streifen darstellen. Ob das eine oder das andere der Fall ist, hängt nicht von der Art des Streptococcus, sondern von gleich zu betrachtenden zufälligen Verhältnissen ab.

Häufig, aber keineswegs immer, beobachtet man, dass, während in der Mitte der Cultur die Colonieen confluiren, der Rand stärker entwickelte und discretere Colonieen aufweist. Um diese verdickte Randzone findet sich dann bisweilen wieder eine flachere, peripherische Zone, und, wenn sich diese Erscheinung nach aussen noch wiederholt, so sehen wir den ganzen Rand aus von innen nach aussen sich abflachenden Terassen bestehend.

Das eben beschriebene Verhalten der Strichkultur, sowie bräunliche Färbung und geringe Neigung zur Confluenz der Colonieen wurden für charakteristische Eigenthümlichkeiten der Eiterstreptokokken gegenüber denen des Erysipels gehalten.

Schon Hayek (37) hat auf die mangelhafte Stichhaltigkeit dieser Kriterien hingewiesen. Ich kann mich dessen Ausführungen nach dieser Richtung nur anschliessen. Sowohl bräunliche Färbung der Cultur als auch die geschilderte Terassenbildung finden sich auch beim Streptococcus des Erysipels und anderen vor und zwar ebenso häufig als bei den Eiter erregenden Streptokokken.

Das Moment, welches das Aussehen der Streptokokkenculturen wesentlich beeinflusst, ist neben der Reichlichkeit des überimpften Materiales

noch vor Allem das Verhältniss der überimpften Kokken zu einander und zu der gleichzeitig übergebrachten Flüssigkeitsmenge. Das Aussehen der Cultur wird ein ganz anderes sein, wenn wir mit viel Flüssigkeit wenig Kokken, als wenn wir umgekehrt mit wenig Flüssigkeit viel Kokken überimpfen.

Ebenso wird es für die spätere Configuration der Cultur wesentlich sein, ob in dem Impfmateriale die Kokken isolirt oder nur in lockeren Verbänden gelagert sind, oder in relativ festen Ketten und Conglomeraten. Wir werden also ceteris paribus im letzteren Falle eine Cultur zu erwarten haben, die sich aus vielen discreten Colonieen zusammensetzt, im ersteren Falle eine solche mit mehr homogenem Charakter. Welche diagnostischen Schlüsse uns das eine oder das andere Verhalten einer Cultur gestattet, ist hiernach klar. Wir können aus dem mehr oder weniger homogenen Verhalten der Strichcultur schliessen auf die Lagerung der Keime zu einander innerhalb des Impfmateriales.

In der That ist es auf diese Weise möglich, Agarstrichculturen des Streptococcus brevis von denen des Streptococcus longus zu unterscheiden. Homogene Beschaffenheit weist stets auf Streptococcus brevis, leichte Differenzirbarkeit der einzelnen Colonieen auf Streptococcus longus hin. Nur die aus Blutserum übergeimpften Culturen des Streptococcus brevis zeigen nach dieser Richtung kaum Unterschiede von denen des Streptococcus longus, ein Verhalten, das nach dem oben Mitgetheilten leicht verständlich ist. Ebenso gelingt es auch nach diesen Kriterien innerhalb der Gruppe Streptococcus longus die zur Conglomeratbildung neigenden Arten von den anderen zu unterscheiden; die ersteren weisen eben ceteris paribus immer leichter differenzirbare Colonieen auf als die übrigen; vorausgesetzt natürlich, dass man immer nur aus Bouillon überimpfte Culturen in Vergleich zieht.

Dieselben Momente, die sich für das Aussehen der Agarstrichcultur so bedeutsam erwiesen, sind es auch für die Stichcultur.

Je nach der Menge des überimpften Materiales, der Vertheilung der Keime innerhalb der Impfflüssigkeit u. s. w. wachsen die Streptokokken längs des Impfstiches bald in feinsten mit dem blossen Auge kaum zu isolirenden Pünktchen, bald in gelblichweissen, deutlich von einander gesonderten, runden, stecknadelkopf- und darüber grossen Colonieen aus. Die Colonieen des Streptococcus brevis sind häufig nicht ganz rund, sondern von oben nach unten abgeplattet, bisweilen auch ganz unregelmässig.

In der Tiefe des Impfstiches sind die Colonieen meist grösser als nach der Einstichöffnung zu. Zum Theil rührt das gewiss daher, dass die Streptokokken, wie schon frühere Erfahrungen lehrten, bei geringer

Sauerstoffzufuhr besser gedeihen als bei reichlicher. Dann aber kommt wohl hier auch ein Umstand in Betracht, auf den schon Hayek aufmerksam macht, das ist die Abnahme der gegenseitigen Wachsthumsbehinderung, wie sie in Folge der in der Tiefe des Stiches geringer werdenden Keimzahl eintreten muss. Diese gegenseitige Wachsthumsbehinderung scheint mir gerade bei den Streptokokken weniger auf der gegenseitigen Wegnahme von Nährstoffen zu beruhen, als vielmehr auf der Bildung irgend welcher specifisch entwickelungshemmender Producte. Damit würde wenigstens am besten die schon oben mitgetheilte Thatsache im Einklang stehen, dass die Streptokokken in einer Bouillon, in der sie sich ca. 24 Stunden bei Brüttemperatur vermehrt haben, nicht mehr zu wachsen vermögen, obwohl noch andere Organismen, wie z. B. Staphylococcus pyogenes u. s. w. ausreichende Existenzbedingungen darin finden.

Häufig beobachtet man, namentlich bei reichlicher Ueberimpfung und reichlicher Ausscheidung von Condenswasser, eine Hofbildung um die Einstichöffnung herum. Auch hier lassen sich dann oft mehrere peripherische Zonen erkennen, die sich terassenförmig von einander absetzen, in ganz ähnlicher Weise, wie wir das bei den Strichculturen beschrieben haben. Auch in diesen Bildungen wurden von manchen Beobachtern für bestimmte Arten charakteristische Eigenthümlichkeiten gefunden. Bei näherer Betrachtung lassen sie sich aber nicht leicht auf die schon genannten zufälligen Umstände zurückführen.

Ganz unzweifelhafte und durchaus constante Unterschiede zeigen sich zwischen den kurze und den lange Ketten bildenden Streptokokken bei Cultivirung auf Gelatine. Hinsichtlich des Verhaltens des Streptococcus longus, kann ich hier auf das über die Agarculturen Gesagte verweisen. Dahingegen zeigt der Streptococcus brevis in Stich und Strich auf Gelatine Eigenthümlichkeiten, die allein schon geeignet wären, diesen Streptokokken eine besondere Stelle anzuweisen.

Gehen wir hier von einer Gelatinestichcultur des Streptococcus brevis 16 aus, so zeigt dieselbe, bei 18 bis 22° gehalten, in den ersten 2 bis 3 Tagen keine merklichen Differenzen im Aussehen von den gleichalterigen Culturen der übrigen Streptokokken. Dann aber macht sich in den folgenden Tagen um die Einstichöffnung herum eine trichterförmige Einziehung der Gelatine bemerklich, die sich schliesslich 4 bis 5 mm in die Tiefe erstreckt. Unterhalb des Trichtergrundes beginnen dann, meist durch eine wachsthumsfreie Schicht von diesem abgesetzt, die Streifen der stecknadelkopfgrossen, runden oder unregelmässigen Colonieen.

Die verflüssigenden Eigenschaften bei dem hier zunächst in Betracht gezogenen Organismus sind so gering, dass sie nur da deutlich in Er-

scheinung treten, wo die Streptokokken in grosser Menge auf die Gelatine einwirken. Dies ist in der Stichcultur um die Einstichöffnung der Fall, in der Strichcultur da, wo die mit dem Infectionsmateriale beladene Oese zuerst auf die Gelatine aufgesetzt wird. In der That kann man bei genauerem Nachsehen an dieser Stelle der schrägen Gelatinefläche eine leichte Aushöhlung wahrnehmen, die sich jedoch wie bei der Stichcultur in engen Grenzen hält. Im Uebrigen zeigt die Gelatinestrichcultur den bei der Agarcultur beschriebenen homogenen Charakter.

Uebrigens besitzen nicht alle kurze Ketten bildenden Streptokokken die leimlösende Fähigkeit im gleichen Grade. Beim Streptococcus brevis 7 z. B. bemerken wir kaum mehr als einen feuchten Glanz längs der ganzen Strichcultur, wie auch Doehle in seiner Arbeit über diesen Organismus bemerkt. Andererseits kommt es wieder bei einigen Streptokokken dieser Gruppe, wie beim Streptococcus brevis 8, zur Bildung ziemlich tiefer Verflüssigungskrater um die Einstichsöffnung herum und zu grösseren Aushöhlungen an dem unteren Ende der Strichcultur.

Auf erstarrtem Rinderblutserum wachsen sämmtliche Streptokokken mit Ausnahme des Streptococcus longus 9, der auch hier kein Fortkommen zeigt. Besondere Eigenthümlichkeiten sind jedoch auf diesem Nährboden nicht zu bemerken.

Dagegen führt uns die Kartoffelcultur wiederum in charakteristischer Weise die Verschiedenheit des Streptococcus longus und brevis vor Augen. Bekanntlich zeigen die Streptokokken des Erysipels und des Eiters auf der Kartoffel entweder gar kein oder nur ein sehr kümmerliches Wachsthum. Dasselbe lässt sich auch bei den anderen, lange Ketten bildenden Streptokokken beobachten. Dem gegenüber bildet die Kartoffel für den Streptococcus brevis einen ausgezeichneten Nährboden, auf dem derselbe bei ein- bis zweitägigem Aufenthalte bei Brüttemperatur üppige, grauweisse, confluirende, leicht abziehbare Beläge bildet.

Das Temperaturoptimum liegt, meinen Beobachtungen nach, für alle Streptokokken zwischen 25° bis 37° C., die unteren Grenzen dagegen, bei denen noch Wachsthum eintreten kann, sind für die beiden Hauptgruppen recht verschieden. Der Streptococcus longus verlangt wenigstens eine Temperatur von 14° bis 16° C., während der Streptococcus brevis noch bei 12° und sogar 10° C. ein wenn auch langsames Wachsthum auf Gelatine zeigt. Bei 7° C. habe ich jedoch auch bei den Vertretern dieser Gruppe selbst nach 8 Tagen keine makroskopisch sichtbare Colonieenbildung mehr wahrnehmen können. Eine Abtödtung von Streptokokkenculturen liess sich jedoch durch solche Temperaturen selbst nach längerer Einwirkung nicht erzielen, vielmehr zeigten sich dieselben

bei entsprechender Prüfung unter günstiger Temperatur noch stets als vollkommen lebensfähig.

Um nichts unversucht zu lassen, was vielleicht noch zu weiteren Unterscheidungen der Streptokokken unter einander führen könnte, suchte ich mir noch zwei Fragen zu beantworten, die beide auf die biochemischen Verhältnisse Bezug haben.

Zunächst wollte ich erfahren, ob nicht vielleicht manche Streptokokken eine für sie specifische Aenderung in der Reaction des Nährbodens, in qualitativer oder auch nur in quantitativer Richtung hervorriefen, sodann ob die Streptokokken, resp. manche von ihnen, nachweisbare Reductionswirkungen bei Cultivirung im tiefen Impfstich auszuüben vermöchten.

Der Beantwortung der ersten Frage suchte ich nun nicht dadurch näher zu treten, dass ich wie Hayek und Andere entsprechende Reagentien wie Lackmustinctur u. s. w. den Nährböden zusetzte, sondern durch eine möglichst genaue Titrirung der Nährböden vor und nach stattgehabtem Wachsthum. Dies Verfahren wählte ich einerseits, weil sich die genannten Zusätze dem Streptokokkenwachsthum als wenig günstig erwiesen, andererseits, weil ich quantitative Bestimmungen zur Hand haben wollte.

Die nach dieser Richtung hin angestellten Versuche ergaben, dass sämmtliche Streptokokken Säure produciren, dass sich diese Säureproduction aber in engen Grenzen hält und dass innerhalb dieser engen Grenzen Unterschiede in der Säureproduction zwischen den einzelnen Streptokokken, wenn überhaupt vorhanden, so nicht sicher nachweisbar sind. Durchschnittlich betrug die Säureproduction in der gewöhnlichen Nährbouillon von 5 bis 7.5 ccm Normalnatronlauge Alkalescenz pro Liter, zwischen 2 bis 4 ccm Normalsäure pro Liter. Die untersuchten Culturen waren alle 24 Stunden bei Brüttemperatur gewachsen. Vergleiche mit älteren Culturen ergaben keine nennenswerthen Abweichungen.

Die Reductionswirkungen wurden nach dem von Kitasato und Weyl empfohlenen Verfahren des Zusatzes von indigsulfosaurem Natron zu Agarnährböden geprüft. Anstatt des von jenen Forschern empfohlenen Zusatzes von 0.1 Procent jener Substanz setzte ich nur die Hälfte, also 0,05 Procent zu. Bei diesen Versuchen ergab sich nun die Thatsache, dass der Streptococcus brevis erhebliche Reductionswirkungen in der Stichcultur auszuüben vermag. Schon nach eintägigem Aufenthalte bei Brüttemperatur färben sich die unteren Partieen der Cultur grünlich und nach 3 bis 4 Tagen ist die Entfärbung bis auf die obersten Schichten eine nahezu vollständige. Dagegen liess sich bei keiner mit jenem Zusatz

versehenen Cultur des Streptococcus longus eine deutliche Farbenveränderung wahrnehmen.

Hieraus lässt sich zunächst natürlich nur das schliessen, dass die Vertreter des Streptococcus longus gegenüber der hier in Frage gekommenen Substanz keine ausgiebigen Reductionswirkungen zu entfalten vermögen. Reducirende Fähigkeit geringeren Grades ist nicht nur aus früher genannten Gründen wahrscheinlich, sondern auch von anderen Untersuchern mit Zuhülfenahme anderer Indicatoren als der von mir benutzten erwiesen worden.

Bevor ich meine Mittheilungen über die culturellen Eigenschaften der von mir untersuchten Streptokokken schliesse, möchte ich noch kurz die wesentlichsten Punkte daraus hervorheben.

Nach meinen Beobachtungen giebt es zwei grosse Gruppen unter den Streptokokken. Dieselben sind in stark eiweisshaltigen Nährböden (Eiter, Serum) nicht von einander zu unterscheiden, dagegen bieten sie constante Unterschiede bei Cultivirung in Bouillon. Die ausschlaggebenden Kriterien sind hier makroskopisch: Vorhandensein einer Trübung des Substrates, mikroskopisch: die Kettenlänge. In Agarculturen sind die beiden Gruppen schwer, leichter in Gelatineculturen zu unterscheiden, in denen die kurze Ketten bildenden Streptokokken eine geringe Verflüssigung bewirken, die der Streptococcus longus stets vermissen lässt. Auf Kartoffeln zeigt nur der Streptococcus brevis makroskopisch sichtbares Wachsthum. In biochemischer Beziehung ist diese Gruppe zugleich ausgezeichnet durch ihre starken reducirenden Fähigkeiten gegenüber gewissen chemischen Präparaten.

Innerhalb der beiden aufgestellten Hauptgruppen sind die culturellen Differenzen sehr gering. Bei den Streptokokken der Gruppe Streptococcus brevis konnten quantitative Unterschiede der leimlösenden Fähigkeit constatirt werden. Bei den Streptokokken der anderen Gruppe zeigen sich Verschiedenheiten in der Neigung zur Bildung fester Conglomerate bei Züchtung auf Nährbouillon. Ist diese Neigung eine ausgesprochene, so überträgt sie sich auch auf die von den Bouilloncultureu angelegten Culturen auf festen Nährböden und manifestirt sich dann hier in der leichten Differenzirbarkeit der einzelnen Colonieen.

II. Verhalten der Streptokokken gegen den Thierkörper.

Bei der Mangelhaftigkeit der Kriterien, die die mikroskopische Betrachtung und das Culturverfahren für die Unterscheidung der Streptokokken an die Hand gab, war es selbstverständlich, dass man sich um

so eifriger dem Thierexperimente zuwandte. Doch auch hier hat sich eigentlich nur wenig Brauchbares ergeben, und auch dieses harrt noch der Anerkennung.

Die ersten sicheren Experimente verdanken wir auch wieder Fehleisen, dem es gelang, durch Einimpfung des von ihm gefundenen Streptococcus unter die Haut des Kaninchenohres typisches Erysipelas hervorzurufen. Dieser Effect sollte ein specifischer und ein von dem durch Verimpfung des Streptococcus pyogenes hervorgerufenen verschiedener sein. Dieser Ansicht vermochten sich jedoch Passet und Andere nicht anzuschliessen. Rosenbach legte Werth auf die pathogenen Eigenschaften des Streptococcus pyogenes gegenüber Mäusen; dieselben sollten bei Impfung minimster Mengen nach einigen Tagen „an einer flachen, progredienten Eiterung" zu Grunde gehen. Kaninchen hielt er für wenig empfänglich gegen seinen Streptococcus. Nach Hoffa (39) sollte der Streptococcus pyogenes ausser der wandernden Röthung auch entzündliche Knoten ohne Vereiterung bilden, eine Fähigkeit, die dem Erysipelstreptococcus abgehen sollte. Hayek begründet die Verschiedenheit der beiden in Rede stehenden Organismen damit, dass der Streptococcus pyogenes vor dem Erysipelstreptococcus die Fähigkeit voraus habe, schrankenlos das Gewebe zu durchdringen und Allgemeininfection hervorrufen zu können. Biondi (40), v. Eiselsberg (41), Baumgarten (42) vermochten wiederum die Beobachtungen von Hoffa und Hayek nur sehr theilweise zu bestätigen und nehmen eine mehr gleichartige Wirkung beider Kokkenarten auf das thierische Gewebe an. Kranzfeld (43) sah bei seinen Experimenten am Kaninchenohr niemals Eiterung nach Einimpfung des Eiterstreptococcus eintreten, während er die Mäuse unter dem Bilde der progressiven Gewebsnekrose daran zu Grunde gehen sah. Zu etwas von den übrigen Beobachtungen abweichenden Resultaten kommt Hartmann (44), der bei Impfung mit Streptococcus erysipelatis bei Mäusen immer tödtliche Allgemeininfection eintreten sah, niemals bei einem der anderen Versuchsthiere (Kaninchen, Meerschweinchen, Ratten). Da sein Streptokokkenmaterial zum Theil aus den „inneren puerperalen Erysipelen" gestammt hat, so erscheint es mir doch nicht ganz ausgemacht, dass es sich hier wirklich um Erysipelstreptokokken gehandelt hat.

Ueber die Resultate meiner eigenen Thierexperimente werde ich im Folgenden kurz berichten.

Schon im ersten Theile meiner Arbeit machte ich gelegentlich darauf aufmerksam, dass im Gegensatze zu den lange Ketten bildenden Streptokokken der Streptococcus brevis sich durch den Mangel jeglicher patho-

genen Wirkungsfähigkeit auszeichne. Ist diese Behauptung richtig, so wäre damit die zunächst rein morphologische Eintheilung der Streptokokken nach ihrer Neigung zur Bildung kürzerer oder längerer Ketten auch in Bezug auf das pathogene Verhalten als durchaus gerechtfertigt erwiesen. In der That kann man nun den üblichen Versuchsthieren, als Kaninchen, Meerschweinchen, Mäusen u. s. w., sehr beträchtliche Mengen frischer Bouilloncultureu von Streptococcus brevis injiciren, ohne dadurch sichtbare Krankheitssymptome oder gar den Tod der Thiere hervorzurufen. Eine derartige Indifferenz gegenüber dem Thierkörper liess sich bei keinem Streptococcus longus constatiren. Vielmehr vermögen alle Repräsentanten dieser Gruppe bei entsprechender Application wenigstens bei einer Thierspecies gewisse Krankheitserscheinungen hervorzurufen, die im Folgenden ihre Erörterung finden sollen.

Eine Sonderstellung nimmt unter den von mir untersuchten pathogenen Streptokokken der Streptococcus longus 9 ein, der ja auch culturell, z. B. durch sein Verhalten gegen Rinderserum, Abweichungen von den anderen darbot. Derselbe zeichnet sich nämlich durch eine sehr hohe Virulenz gegenüber weissen Mäusen aus. Impfungen mit einer kleinen Lanzette, die in frische Bouilloncultureu oder Blut getaucht ist, lassen Mäuse ausnahmslos nach Verlauf von zwei Tagen unter dem Bilde der Septicämie zu Grunde gehen. In dem Blute der verendeten Thiere sowie in den Organen, vor allem in der stark vergrösserten Milz, finden sich Kokken, Diplokokken und kurze Ketten in reichlicher Menge vor.

Anders verläuft gewöhnlich die Erkrankung, wenn wir statt mit einer frischen Bouilloncultur mit dem Sediment einer fünf Tage bei Brüttemperatur gehaltenen Cultur impfen. In diesem Falle tritt der Tod der Thiere erst fünf bis sechs Tage nach der Impfung ein, und der Sectionsbefund ist dann ein ganz anderer. Es finden sich dann fast immer eiterig-seröse, pleuritische und peritonitische Exsudate, sehr starke Milzvergrösserung und eiterige Herde in der Leber und den Lungen vor.

Auch Kaninchen zeigen sich recht empfänglich bei jeder Art der Application. Allerdings sind blosse Impfungen mit der Lanzette, wie sie bei Mäusen ausreichten, nicht immer von Erfolg. Die Thiere starben zwar ziemlich häufig, ohne dass sich jedoch weder gröbere Veränderungen in den Organen, noch Streptokokken irgendwo nachweisen liessen. Nur die in solchen Fällen immer angebrachte genaue Durchsuchung der Lungen ergab dann noch positive Resultate. Man stösst dabei auf vereinzelte Herde, namentlich an der Pleuragrenze, während dieselben nach innen zu sich seltener vorfinden.

Spritzt man dagegen 0,5 bis 1,0 Bouilloncultur subcutan ein, so

sterben die Thiere nach fünf bis sechs Tagen, und dann sind regelmässig die Streptokokken in grosser Menge im Blute und in den Organen zu finden, am meisten jedoch in den Gefässen. An der Injectionsstelle finden sich anfangs Röthung, Schwellung, später häufig Eiterherde vor.

Aendert man weiter den Applicationsmodus in der Weise ab, dass man anstatt unter die Haut 0.5 bis 0.75 ccm einer Bouilloncultur in eine Ohrvene injicirt, so sterben die Thiere schon nach 36 bis 48 Stunden, und die Streptokokken sind dann in ausserordentlich grosser Menge in den Blutgefässen anzutreffen. Die Milz ist in der Mehrzahl der Fälle bei Kaninchen kaum vergrössert, während sie bei Mäusen eine Grösse erreicht, wie man sie bei Milzbrand beobachtet.

Sehr wechselnd ist das Verhalten der Meerschweinchen. Subcutane Impfungen bringen bei denselben in der Regel nur eine locale Infiltration zu Stande mit nachträglicher Bildung eines Abscesses, welcher dann bald zur partiellen Nekrose und Ansiedelung anderer Mikroorganismen, meist von Staphylococcus pyogenes, führt. Auch bei subcutaner Injection etwas grösserer Mengen lässt sich der Erfolg nicht voraussehen. Es kann sechs bis acht Tage dauern, ehe man den Thieren Krankheitserscheinungen anmerkt. Manche überstehen bis auf locale Abscessbildung die Injection ganz gut. Andere aber sterben nach 6 bis 10 bis 14 Tagen unter wechselnden Erscheinungen.

Im Blute werden die Streptokokken verhältnissmässig selten angetroffen. In drei Fällen hatten wir Gelegenheit, zahlreiche partielle Hepatisationen namentlich in den unteren Lungenpartieen zu beobachten, in einem Falle dagegen totale Hepatisation der Lunge und daneben ein sehr starkes, fibrinöses Exsudat im Pleurasacke mit starker Schwartenbildung auf der Pleura.

Von anderen Thieren reagirten nicht merklich auf Impfung und Injection drei Ratten, zwei Hunde, eine Katze, zwei Hühner und zwei Tauben.

Obwohl so der Streptococcus longus 9 auch gegenüber anderen Thierarten als Mäusen intensive pathogene Wirkungen zu entfalten im Stande ist, so möchte ich doch als sein Charakteristikum die hohe Virulenz gegen Mäuse hinstellen und ihn als Streptococcus longus murisepticus den übrigen pathogenen Arten gegenüberstellen.

Hieraus darf man jedoch nicht den Schluss ziehen, dass ich damit sämmtlichen übrigen Streptokokken jegliche pathogene Eigenschaften gegenüber Mäusen absprechen wollte. Ich betrachte vielmehr eine gewisse Virulenz für Mäuse als die Eigenthümlichkeit einer ganzen Gruppe, zu der alle diejenigen Streptokokken gehören, die sich ihrer Herkunft

und ihren sonstigen Eigenschaften nach als Streptococcus pyogenes der Autoren ansprechen liessen. Zu dieser Gruppe gehören nach meiner Tabelle der Streptococcus pyogenes (aus der Sammlung des Institutes), der Streptococcus 11, 12, 13, 14, 15, 17. Alle diese Streptokokken rufen in Mengen von 0.1 bis 0.2 ccm einer frischen Bouilloncultur Mäusen subcutan injicirt eine in drei bis vier Tagen verlaufende tödtliche Allgemeininjection hervor. Eine blosse Impfung mit der Lanzette blieb entweder ganz erfolglos oder bewirkte, wie in einigen Fällen, eine starke, aber mit Genesung endende, locale Abscessbildung.

Versuche mit Ratten, denen 1.0 ccm einer frischen Bouilloncultur subcutan injicirt wurde, blieben ganz erfolglos. Dagegen zeigten auch hier wieder Kaninchen sich ziemlich empfänglich. Dieselben wurden entweder in der Weise inficirt, dass ihnen 0.3 bis 1.0 ccm Bouilloncultur unter die Ohrhaut oder in eine Ohrvene injicirt wurde.

Hinsichtlich der Krankheitserscheinungen, welche die so inficirten Kaninchen darbieten, kann ich wohl in der Hauptsache auf die vielen Mittheilungen anderer Beobachter verweisen, die über die pathogenen Wirkungen des Streptococcus pyogenes beim Kaninchen berichtet haben. Um so mehr möchte ich aber hier auf eine detaillirte Darstellung nach dieser Richtung verzichten, als sich in meinen Versuchen brauchbare und durchschlagende Kriterien für eine sichere Unterscheidung nicht ergeben haben.

Die Incubationszeit schwankte zwischen einem und drei Tagen. Einige Kaninchen zeigten dann das typische Bild des Erysipels, also wandernde Röthung, die vom Ohr ausgehend zum Nacken und bisweilen noch ziemlich weit auf dem Rücken fortschritt, und dabei eine geringe Schwellung verursachte. Unter Abschilferung der Epidermis trat dann, meist schon nach fünf bis sechs Tagen, Heilung ein.

In anderen Fällen zeigte sich eine mehr circumscripte Röthung ohne Tendenz zur Wanderung und beträchtlichere Schwellung. Diese ging dann entweder nach sieben bis acht Tagen völlig zurück oder es bildeten sich rundliche Knoten mit eiterigem, später käsigem Inhalte. Mochte nun die Erkrankung mehr nach der einen oder mehr nach der anderen Art verlaufen, so war das Allgemeinbefinden immer wenig gestört und die Thiere blieben sämmtlich am Leben.

Diesen mit Restitution endenden Erkrankungen standen jedoch auch andere gegenüber. Hier sah ich meist das inficirte Ohr in seiner Totalität entzündlich infiltrirt. Das ganze Organ, das seiner Schwere folgend schlaff herabhing, fühlte sich dick und teigig an und hatte gegen das Licht gehalten alle Transparenz verloren. Das Allgemeinbefinden der

Thiere war meist sehr schlecht. Meist sassen sie ganz zusammengekauert in einer Ecke ihres Stalles und waren nur sehr schwer zu Bewegungen zu veranlassen. Fast ausnahmslos beendigte hier der Tod nach acht bis zehn Tagen die Scene.

Das Sectionsresultat ergab in diesen Fällen ziemlich übereinstimmend sehr ausgedehnte Hepatisationen in den Lungen, ferner eiterige Pleuritis, auch Pericarditis, während Milz und Darmcanal keine auffallenden Veränderungen erkennen liessen.

Injectionen in die Ohrvene blieben meist erfolglos, in einem Falle jedoch fand sich eine eiterige Gelenkentzündung darnach vor, die sich auch intra vitam schon bemerkbar gemacht hatte.

Als wichtig möchte ich hervorheben, dass keine von den aufgeführten Krankheitserscheinungen sich als specifisch für irgend einen Streptococcus dieser Gruppe ergeben hätte, dass vielmehr derselbe in einem Falle Erysipel, in einem anderen schwere Allgemeininfection mit letalem Ausgange hervorrufen konnte. Die Quantität der injicirten Cultur schien auch nach dieser Richtung von Einfluss zu sein. Jedenfalls illustriren die angegebenen Thatsachen die Unmöglichkeit, aus dem Experimente am Kaninchenohre einen Schluss auf die Natur des Streptococcus ziehen zu können.

Aehnliche Wirkungen, wie die mitgetheilten, rufen bei gleichem Modus der Application auch die Streptokokken hervor, die wir ihrer Herkunft nach als Streptococcus erysipelatis ansprechen müssten. Auch diese Organismen rufen beim Kaninchenohre nicht nur eine wandernde, durch Röthung und geringe Schwellung ausgezeichnete Entzündung hervor, sondern auch Erkrankungen mit starker stationär bleibender Schwellung. Allerdings muss ich zugeben, dass ich schwere Allgemeininfectionen, wie ich sie so häufig nach Infection mit den Streptokokken der vorigen Gruppe beobachtet habe, beim Streptococcus erysipelatis niemals constatiren konnte. Immerhin scheint mir die individuelle Disposition des betreffenden Thierkörpers sowohl in quantitativer wie qualitativer Hinsicht die durch Einverleibung von Streptokokken ausgelösten Erkrankungen wesentlich zu beeinflussen.

Die Gründe, die mich bewogen haben, die Streptokokken des Erysipels nicht einfach in die vorige Gruppe hineinzuziehen, waren weniger die geringen Differenzen im Verhalten gegen den Kaninchenkörper, als vielmehr der verschiedene Ausfall des Mäuseexperimentes. Während, wie oben mitgetheilt, die Gruppe Streptococcus pyogenes in Dosen von 0.1 bis 0.2 ccm einer frischen Bouilloncultur Mäusen subcutan einverleibt, schnell tödtlich verlaufende Septicämieen hervorrief, wurden stets von Bouillonculturen der Erysipelstreptokokken, die sich für Kaninchen als

ganz virulent erwiesen, 0.3 ccm und mehr von den Mäusen ohne Schaden vertragen. Mit diesen Beobachtungen stimmen übrigens im Ganzen auch die Angaben anderer Untersucher überein. Jedenfalls würde ich stets bei der Diagnose, ob Streptococcus pyogenes oder Streptococcus erysipelatis vorliegend, mehr Werth auf das Experiment an der Maus als auf das an dem Kaninchen legen. Auf Grund ihres Verhaltens gegen die von mir benutzten Versuchsthiere würde ich also die Streptokokken meiner Tabelle nach folgendem Schema eintheilen.

Streptokokken

nicht pathogen — pathogen

Streptococcus brevis — Streptococcus longus

pathogen für Mäuse und Kaninchen.
a) Streptoc. murisepticus
b) Streptoc. pyogenes.

pathogen für Kaninchen
Streptoc. erysipelatis.

Um so mehr scheint mir eine derartige Eintheilung berechtigt zu sein, als ihr das Culturexperiment zur Seite steht. *Wir sehen hier eine Gruppe von Streptokokken, die wir auf ihr mikroskopisches und culturelles Verhalten als Streptococcus brevis von den übrigen sonderten, als überhaupt keiner pathogenen Wirkung fähig gegenüber den üblichen Versuchsthieren. Wir erkennen dagegen die Streptokokken, die wir als Streptococcus longus zusammengefasst, sämmtlich als virulent und zwar ziemlich gleich virulent für eine bestimmte Thiergattung (Kaninchen), gewinnen jedoch durch das Experiment an einer anderen Thiergattung (Mäuse) die Ueberzeugung, dass auch zwischen diesen Streptokokken noch Unterschiede bestehen müssen. Es zeigt sich, dass die Streptokokken, die durch ihre hohe pathogene Kraft gegenüber Mäusen auffallen, auch diejenigen sind, die sich durch ihr eigenthümliches Verhalten in Culturen (Conglomeratbildung in Bouillon) bemerkbar machten. Wir finden schliesslich, dass auch unter diesen wieder sich einer durch besondere Virulenz gegenüber Mäusen auszeichnet, und dass dies derselbe ist, der uns culturell durch sein mangelhaftes Wachsthum auf Rinderserum auffiel.*

Nimmt man das Verhalten gegen Mäuse allein als die Arten trennendes Kriterium an, so zeigen sich eigentlich nur quantitative Unterschiede in der Virulenz zwischen den verschiedenen Streptokokken. Zwischen denen, die bei blosser Impfung mit der Lanzette schon tödtliche Allgemeinwirkungen zu Stande zu bringen vermögen, und denen, die in Mengen

von 0.3 ccm einer Bouilloncultur noch vertragen werden, stehen die, welche in 0.1 bis 0.2 bis 0.3 ccm einer Bouilloncultur ihre wirksame Dosis bei Mäusen haben.

Es wäre nun selbstverständlich vergebliche Mühe, eine Eintheilung der Streptokokken zu versuchen, wenn sich diese Stufen der Virulenz ineinander überführen liessen. Die Möglichkeit hierzu schien nicht allzu fern zu liegen, als es sich zeigte, dass Bouillonculturen des Streptococcus 9, die mehrere Tage bei Brüttemperatur gestanden hatten, zwar ihre Entwicklungsfähigkeit auf künstlichen Nährböden nicht eingebüsst hatten, wohl aber ihre Virulenz, wenigstens bei einfacher Verimpfung durch die Lanzette.

Eine weitere Verfolgung der Sache zeigte jedoch, dass einerseits die Virulenz in den abgeimpften Culturen spontan wiederkehrte, dass es sich also um eine Abschwächung im Sinne der Terminologie nicht handeln konnte, und dass andererseits jener Verlust der Virulenz sich in manchen Nährböden überhaupt nicht oder nur unvollkommen und viel später zeigte. Züchtet man, statt auf Bouillon, auf Kaninchenserum, so hält sich bisweilen die Virulenz über Wochen auf gleicher Höhe selbst bei Aufenthalt in Brüttemperatur[1]).

Die Züchtung der Streptokokken auf Kaninchenblutserum ist übrigens nach Roger nicht nur ein Mittel, die Virulenz zu erhalten, sondern sie soll, in Serien durchgeführt, dieselbe sogar erhöhen. Ebenso soll eine dauernde Züchtung auf Bouillon zu einer Abschwächung führen. Beides kann ich nach meinen Beobachtungen als für gewisse Grenzen richtig bestätigen. Es ist mir jedoch nie gelungen, durch consequente Serumzüchtungen z. B. einen Streptococcus pyogenes so virulent zu machen, dass Mäuse schon einer blossen Impfung unterlegen wären.

Ausser auf die vorbenannte Art und Weise, suchte ich eine Abschwächung meiner Streptokokken durch chemische Mittel hervorzurufen. Ich setzte sie eine Zeit lang, meist 2 Stunden, starken Antisepticis wie Carbolsäure, Sublimat, Wasserstoffsuperoxyd, Jodtrichlorid u. s. w. in verschiedenen Concentrationen aus und spritzte dann je einer Maus 0.2 ccm der so behandelten Culturen ein. Hierbei zeigte sich dann, dass die Thiere entweder am Leben blieben, dann war die Menge des Desinficiens die abtödtende Dosis gewesen, oder die Thiere starben, dann handelte es sich entweder um Intoxication durch das zugleich eingeführte Präparat, oder um die regelrechte Septicämie.

---

[1]) Gleich gute Dienste wie das Kaninchenserum leistete mir das leichter zu beschaffende Rinderserum, wenn demselben 25 Procent einer 1 bis 3 Procent peptonhaltigen Bouillon zugesetzt waren.

Ob sich andere Resultate ergeben werden hinsichtlich der Abschwächung bei Züchtung in höherer Temperatur u. s. w., lasse ich dahingestellt. Vor der Hand halte ich an der Constanz der Virulenz fest. Dieselbe kann bei längerem Aufenthalt in Brütwärme, in alten Culturen, auf ungeeignetem Nährmaterial etwas geringer werden, jedoch nicht im Sinne einer dauernden Abschwächung. Geeignete Züchtung (Serum), Durchschicken der Streptokokken durch den Thierkörper u. s. w., wird stets das alte Maass der Virulenz wieder herstellen.

Mit der Frage der Abschwächung eines pathogenen Organismus hängt seit Alters die der Immunisirung eng zusammen. Meine Untersuchungen hierüber sind nicht zu einem Abschluss gekommen und will ich daher nur kurz darauf eingehen.

Die Immunisirung gegenüber den Streptokokken stösst schon deshalb auf besondere Schwierigkeiten, als ein einmaliges Ueberstehen einer Streptokokkenerkrankung keineswegs Unempfänglichkeit gegen weitere Infectionen bedingt. Erst nach wiederholt überstandenem Erysipel lässt sich nach Roger eine gewisse Indifferenz der Versuchsthiere auch gegenüber grösseren Mengen infectiösen Materiales erkennen, nie aber eine völlige Immunität.

Trotzdem mich dies Verhalten eigentlich nicht viel hoffen liess, habe ich doch sowohl nach der von Fränkel (40), wie nach der von Behring bei Diphtherie empfohlenen Methode Immunisirungsversuche angestellt. Nach der ersteren Methode verfuhr ich in der Weise, dass ich vier Wochen alte Bouillonculturen von Streptococcus murisepticus 1 Stunde auf 65° erhitzte und dann 6 Mäusen je 0.3 ccm in die Bauchhöhle spritzte. Nach Verlauf von 14 Tagen wurden 2 Mäuse subcutan mit Streptococcus murisepticus geimpft. Dieselben starben nach 2 Tagen ebenso wie die Controlthiere. Die übrigen 4 Mäuse erhielten ebenfalls je 0.3 ccm der besagten Bouilloncultur in die Bauchhöhle. Nach 14 Tagen ergab der Impfversuch ebenfalls noch keine Abnahme der Empfänglichkeit. Es wurde wieder injicirt, nach 14 Tagen wieder geprüft und derselbe negative Erfolg erzielt.

Bessere Resultate ergab nach längerer consequenter Prüfung das Behring'sche Verfahren. Nach vielen vergeblichen Versuchen gelang es mir auf folgende Weise zu befriedigenderen Resultaten zu gelangen. Ich liess auf 10 Tage alte reichlich gewachsene Bouilloncculturen von Streptococcus murisepticus Jodtrichlorid im Verhältniss von 1 : 750 eine Viertelstunde einwirken und injicirte einer Anzahl Mäusen je 0.3 ccm subcutan. Nach 10 Tagen erhielten dieselben Mäuse wieder je 0.3 ccm einer gleichen Bouilloncultur, auf die jedoch Jodtrichlorid nur im Ver-

hältniss von 1 : 2000 und zwar 4 Stunden eingewirkt hatte. Nach Ablauf von 10 Tagen wurde wieder injicirt, diesmal aber eine Bouilloncultur, die nur 2 Stunden einem Jodtrichloridzusatze von 1 : 5000 unterworfen gewesen war. Wurden hierauf nun die überlebenden Mäuse nach 14 Tagen geimpft, so blieben sie am Leben, während nicht behandelte Controlmäuse starben.

Im Folgenden gebe ich einen kurzen Auszug aus dem letzten hierauf bezüglichen Protokolle.

Datum 1891	Injection resp. Impfung.	Resultat	Bemerkungen
6./1.	12 weisse Mäuse erhalten je 0.3 ccm einer Bouilloncultur von Strept. murisept. (14 Tage alt) auf die Jodtrichlorid im Verhältniss von 1 : 750 $^1/_4$ Stunde eingewirkt hat.	† ein Thier nach 24 Stunden.	Todesursache unbekannt. Im Blut keine Strept. nachweisbar.
16./1.	Nach 10 Tagen werden 2 Thiere geimpft mit Bouilloncultur Strept. murisept.	† 2 Thiere je nach 2, resp. 3 Tagen	Die 2 Controlthiere starben nach 2 Tagen.
	Die übrigen erhalten je 0.3 ccm Bouilloncultur, auf die Jodtrichlorid 1 : 2000 vier Stunden eingewirkt hat.	—	—
26./1.	Nach 10 Tagen werden 2 Thiere geimpft mit Strept. murisept.	† 2 Thiere je nach 3, resp. 4 Tagen	Die 2 Controlthiere starben nach 2 Tagen.
	Die übrigen erhalten je 0.3 ccm Bouilloncultur, auf die Jodtrichlorid 1 : 5000 zwei Stunden eingewirkt hat.	† 2 Thiere je nach 3, resp. 4 Tagen	—
5./2.	1. Nach 10 Tagen werden 2 Thiere mit Strept. murisept. geimpft.	Beide Thiere leben	Die 2 Controlthiere starben nach 2 Tagen.
	2. 2 Thiere erhalten je 0.1 ccm frische Bouilloncultur von Strept. murisept.	† nach 4, resp. 5 Tagen	Controlthier stirbt nach 24 Stunden.
	3. Ein Thier erhält 0.2 ccm derselben Cultur.	† nach 3 Tagen	Controlthier stirbt nach 24 Stunden.

Aus diesen allerdings nicht hinreichend zahlreichen Versuchen glaube ich jedenfalls das mit Sicherheit schliessen zu dürfen, dass eine Immunisirung der Mäuse gegen Impfung mit meinem Streptococcus murisepticus nach dieser Methode möglich ist. Auch bei Einverleibung sehr grosser Mengen des Infectionsmaterials lässt sich eine bemerkenswerthe Herabsetzung der Empfänglichkeit der Thiere constatiren.

III. Versuche über Entwickelungshemmung und Abtödtung der Streptokokken.

Die Prüfung der entwickelungshemmenden Wirkungen der chemischen Präparate geschah nach der zuerst von Behring empfohlenen Untersuchungsmethode im hängenden Tropfen. Die hierbei in Betracht gezogenen Organismen waren der Streptococcus 8 als Repräsentant der einen und Streptococcus longus erysipelatis und Streptococcus longus 9 als Repräsentanten der anderen Gruppe. Als Nährmedium diente ausschliesslich die gewöhnliche Bouillon von 5 bis 75 ccm Normalnatronlauge pro Liter Alkalescenz. Zur Impfung wurden entweder kleinste sterilisirte und mit den Bouilloncultureu der betreffenden Organismen imprägnirte Seidenfäden benutzt, oder bei Versuchen mit Streptococcus longus 9 das Blut von an diesem Streptococcus verendeten Thieren. Als entwickelungshemmend wurde die Concentration eines Mittels betrachtet, bei der nach ein- bis zweitägigem Aufenthalte der hohlen Objectträger im Brütschranke kein Wachsthum mikroskopisch zu constatiren war.

Die chemischen Präparate, um die es sich bei diesen Versuchen handelte, waren zunächst Natronlauge und verschiedene Säuren. Diese Körper wurden an den Repräsentanten beider Gruppen geprüft. Für den Streptococcus erysipelatis und Streptococcus longus 9, welche beide sich gleich verhielten, wurden noch einige praktisch wichtige Antiseptica, Carbolsäure und verschiedene Metallsalze in Betracht gezogen. Auch die in neuerer Zeit in Aufnahme gekommenen Farbstoffe, das Malachitgrün und Pyoktanin fanden Berücksichtigung.

Es ergab sich nun bei diesen Versuchen, dass der Streptococcus longus im Gegensatze zu seinem Verhalten zu Alkalien sehr empfindlich gegen einen, wenn auch nur geringen Zusatz an Säure, besonders anorganischer Säuren ist. Demgegenüber vertrug der Streptococcus brevis wieder weniger Alkali, aber etwas mehr Säure. Es stehen diese Resultate also ganz im Einklange zu dem, was oben über das Verhalten der Streptokokken in alkalischer und saurer Bouillon mitgetheilt wurde.

Von den übrigen Präparaten zeigten eine sehr hohe entwickelungshemmende Wirkung die Farbstoffe, besonders das Malachitgrün, das noch höhere Werthe ergab, als das wirksamste Metallsalz, das Goldkaliumcyanid. Nach dem Goldkaliumcyanid folgen dann mit etwas geringerer antiseptischer Kraft die Quecksilberpräparate, das Sublimat und das Quecksilberoxycyanid. Etwa die Hälfte der Wirksamkeit des Malachitgrüns besass der andere Farbstoff, das Pyoktanin. Zwei andere Prä-

parate, über deren entwickelungshemmende Eigenschaften ich schon in einer kleinen Arbeit im VIII. Bande der Zeitschr. f. Hygiene berichtete, das Lithiumchlorid und das Thalliumcarbonat, ergaben in Bouillon gegenüber Streptokokken ähnliche Werthe wie in Serum gegenüber Milzbrand. Diese Mittel haben eben vor manchen anderen den Vorzug, auch in stark eiweisshaltigen Nährböden eine gleiche Wirksamkeit wie in Bouillon zu entfalten.

Die folgende Tabelle C giebt eine Uebersicht über das bei meinen Versuchen über Entwickelungshemmung gewonnene Zahlenmaterial.

Tabelle C.

Präparat	Streptococcus	*a.* Entwickelungshemmung trat ein bei einem Procentgehalte von	*b.* Entwickelungshemmung trat ein bei einem Verhältniss von	*c.* Normallauge resp. Normalsäurezusatz pro Liter, welcher zur Entwickelungshemmung ausreicht.
Natronlauge	Streptococcus 8	0.208	1 : 500	55
	Streptoc. erysipel.	0.244	1 : 416	65
Salzsäure	Streptococcus 8	0.055	1 : 1809	15
	Streptoc. erysipel.	0.032	1 : 3125	10
Schwefelsäure	Streptococcus 8	0.068	1 : 1428	15
	Streptoc. erysipel.	0.049	1 : 2040	10
Oxalsäure	Streptococcus 8	0.088	1 : 1111	20
	Streptoc. erysipel.	0.066	1 : 1492	15
Sublimat	„	0.0015	1 : 65000	—
Quecksilberoxycyanid .	„	0.0014	1 : 70000	—
Goldkaliumcyanid . .	„	0.0011	1 : 85000	—
Thalliumcarbonat . . .	„	0.018	1 : 5500	—
Lithiumchlorid . . .	„	0.25	1 : 400	—
Carbolsäure	„	0.18	1 : 550	—
Malachitgrün	„	0.001	über 1 : 100000	—
Pyoktanin	„	0.0025	über 1 : 40000	—
(Methylviolett)	„			

In Colonne a) dieser Tabelle ist ausgerechnet worden, wieviel Gewichtstheile der geprüften Präparate zu 100 Gewichtstheilen Bouillon zugesetzt werden mussten, um die Entwickelung der Streptokokken zu verhindern. Colonne b) giebt das Verhältniss des Präparates zu der Bouillonmenge an, und Colonne c) zeigt, durch welche Vermehrung resp. Verminderung der Alkalescenz, in Normallauge resp. Normalsäure pro Liter Bouillon ausgedrückt, der angegebene Effect erreicht wurde.

Eine grössere Reihe von Versuchen habe ich dann ferner über die Abtödtung der Streptokokken angestellt. Ich benutzte zu diesen Versuchen der praktischen Bedeutung wegen lediglich den Streptococcus erysipelatis, über dessen Verhalten zu Desinfectionsmitteln ja auch schon frühere, wenn auch weniger ausführliche Angaben vorlagen.

Schon sein Entdecker hat einige diesbezügliche Experimente veröffentlicht. Fehleisen fand, dass Erysipelstreptokokken in dünner Schicht der Platinnadel anhaftend, durch 10 bis 15 Secunden langen Contact mit Sublimatlösung 1 : 1000 getödtet wurden, während die 3procentige Carbolsäure diese Wirkung erst nach 45 Secunden haben sollte. Gärtner und Plagge wiederum, die bei ihren Untersuchungen in der Weise verfuhren, dass sie Bouillonculturen mit den Desinficientien mischten und dann Proben davon auf Nährgelatine resp. Blutserum brachten, fanden, dass eine 3procentige Carbolsäure Erysipelstreptokokken schon nach 8 bis 10 Secunden vernichtete. Die Angaben der Autoren gehen also hier ziemlich auseinander.

Die Prüfung an der Platinnadel, wie sie Fehleisen ausführte, hatte wohl nur den Zweck einer vorläufigen Orientirung. Aber auch die Ueberimpfung vermittels Platinöse aus der mit dem Desinfectionsmittel gemischten Cultur in das neue Nährmaterial habe ich für meine Zwecke weniger geeignet gefunden, als die Impfung mit frisch imprägnirten Seidenfäden. Ich stellte mir dieselben in der Weise dar, dass ich eine frische Bouilloncultur von 10 ccm Flüssigkeit bis auf den fünften Theil abpipettirte. In den Rest der Cultur nun, der sämmtliche Streptokokken der Cultur in seinem Sedimente enthielt, legte ich sterilisirte Seidenfäden. Nach einstündigem Aufenthalte darin haben sich dieselben reichlich schon mit Streptokokken imprägnirt und sind dann fertig zur Verwendung.

Als ganz unbrauchbar erwiesen sich zu Desinfectionsversuchen Seidenfäden, an denen die Streptokokken angetrocknet waren. So gut sich dieselben bewähren da, wo es sich um Versuche mit sporenhaltigem Materiale oder mit Staphylococcus pyogenes handelt, so waren sie für meine Zwecke völlig unbrauchbar. Die Streptokokken vertragen, meinen Erfahrungen nach, Eintrocknung sehr schlecht, sodass reichlich damit imprägnirte Fäden schon nach 14 Tagen bis 3 Wochen keine lebenskräftigen Keime mehr enthalten. Daraus ergiebt sich ohne Weiteres, dass solche Fäden für Versuche, wo es sich um Abtödtung weniger widerstandsfähiger Pilzindividuen handelt, nicht zu verwerthen sind.

Vor der directen Ueberimpfung vermittels der Platinöse, hat die Verwendung der Fäden den Vorzug, dass man dabei im Stande ist, das Desinfectionsmittel durch Abspülung zu entfernen. Es ist zwar die Gefahr durch gleichzeitige Ueberbringung antiseptisch wirkender Mengen des Abtödtungsmittels bei nachheriger Prüfung in Bouillon und bei Brüttemperatur geringer, als wenn man das Wachsthum in Gelatine zum

Maassstab der gelungenen Desinfection wählt, immerhin bleibt doch die Möglichkeit bestehen, dass auch sehr geringe Mengen chemischer Antiseptica auf schon geschwächte, aber noch lebensfähige Organismen hier entwickelungshemmend einwirken und Abtödtung vortäuschen können.

Ferner geben auch wohl die Resultate, die bei Verwendung der feuchten frischen Seidenfäden gewonnen sind, ceteris paribus mehr Chancen, die sicher desinficirende Dosis eines Mittels anzugeben, aus dem Grunde, weil die Anzahl der in das neue Nährmedium übergebrachten Keime hier offenbar eine grössere ist, als bei Ueberimpfung durch die Oese.

Mag man nun mit frischen Seidenfäden arbeiten, oder die Uebertragung der Keime durch die Oese vornehmen, immer wird das Alter der benutzten Cultur von Bedeutung sein. Manche Bacterien haben ja bekanntlich die Fähigkeit bei Brüttemperatur gehalten, in der gewöhnlichen Nährbouillon sich über Tage und Wochen zu vermehren. Die alten Culturen sind dann natürlich auch die keimreichsten. *Bei den Streptokokken macht sich der Einfluss des Alters in umgekehrter Weise geltend, indem die älteren Culturen durch Absterben vieler Kokken keimärmer werden. Aus diesem Grunde habe ich für meine Versuche durchgängig frische Culturen gewählt, die 24 bis 36 Stunden bei Brüttemperatur gewachsen waren.*

Es wurde ferner darauf gehalten, dass zur Imprägnirung der Seidenfäden gleiche Bouillonmengen benutzt wurden, in denen die Streptokokken unter genau den gleichen Bedingungen gewachsen waren. Die Bouilloncolturen wurden vor der Benutzung durch Abpipettiren der oberen klaren Schichten keimreicher gemacht, und ich darf annehmen, dass es bei allen Versuchen sich um eine ziemlich gleichmässige Anzahl der der Desinfectionskraft eines jeden Präparates unterworfenen Keime gehandelt hat.

Nach dem von Behring aufgestellten Schema kommt nun als weiteres wesentliches Moment bei Desinfectionsversuchen in Betracht die chemische Beschaffenheit des Substrates, in welchem und die Temperatur, bei welcher das Präparat wirkt. Die letztere betrug bei meinen Versuchen ca. 16° C., die gewöhnliche Zimmertemperatur. Das Medium, in welchem die Desinfection vorgenommen wurde, war wieder die gewöhnliche Nährbouillon von 5 bis 7.5 ccm Normalnatronlauge pro Liter Alkalescenz.

Besonderen Werth legt Behring ferner auf Temperatur und Beschaffenheit derjenigen Nährflüssigkeit, in welche die dem Desinfections-

mittel ausgesetzt gewesenen Keime eingebracht werden zum Zweck der Entscheidung, ob die Abtödtung gelungen ist oder nicht. Nur bei Gewährung bester Chancen für das Wachsthum der betreffenden Organismen (Bouillon bei Brüttemperatur), sind sichere Schlüsse über den Erfolg der Desinfection gestattet.

Unter Berücksichtigung aller genannten Verhältnisse habe ich also meine Versuche in der Weise angestellt, dass ich nach der oben angegebenen Methode hergestellte Streptokokkenseidenfäden vermittels hakenförmig gebogener Platinnadel in die mit dem Desinfectionsmittel versehene Bouillon brachte und darin $^1/_4$ resp. 2 Stunden liegen liess. Dann wurden sie vermittels der Platinnadel herausgenommen, in einer Schale mit Bouillon abgespült und darauf in die Culturröhrchen, die wieder je 5 ccm Bouillon enthielten, eingelegt. Zeigte sich nun bei mehrmalig wiederholten Versuchen nach 24stündigem Aufenthalte der Röhrchen bei Brüttemperatur kein Wachsthum, so wurde die betreffende Concentration des Mittels als ausreichend zur Desinfection angenommen.

Unter den von mir nach dieser Methode untersuchten chemischen Präparaten finden sich zunächst die Repräsentanten der mineralischen Säuren und Alkalien. Die ersteren erwiesen sich als gleich wirksam, während unter den Laugen die Natronlauge weit energischer abtödtete, als Ammoniak und kohlensaures Natron.

Unter den Metallsalzen steht als Desinficiens obenan das Sublimat, dann folgen Goldkaliumcyanid, Eisenchlorid und Kupfer, das letztere mit ziemlich geringer Wirksamkeit. Eine Verbindung des Quecksilbersublimates mit dem auch für sich wirksamen Lithionchlorid schien keine Vortheile zu gewähren.

Als sehr brauchbares Desinficiens, auch gegenüber den Streptokokken, erwies sich das Jodtrichlorid, während das Wasserstoffsuperoxyd hinter den gehegten Erwartungen zurückblieb.

Von den untersuchten Körpern aus der aromatischen Reihe ergaben Carbolsäure und Lysol ziemlich gleiche Resultate. Etwas geringer wirksam fand ich Cresol, das ich in Form der von Gude & Co., Leipzig, hergestellten 15procentigen Cresolseife der Bouillon zusetzte. Weit hinter diesen verwandten Präparaten zurück stand das Creolin, das noch nicht die Hälfte der abtödtenden Kraft der Carbolsäure besass. Ziemlich auf gleichem Niveau standen Rotterin und Naphthylamin.

Als recht kräftige Desinficientien erwiesen sich hingegen die Farbstoffe Malachitgrün und Methylviolett, insbesondere das Malachitgrün, doch schien mir, dass die Wirksamkeit dieser Präparate bei Verwendung verschiedener Bouillon etwas schwankte. Ob dies Verhalten durch Ver-

schiedenheiten im Gehalt an reducirenden Stoffen zu erklären ist, lasse ich dahingestellt.

In der nachstehenden Tabelle D sind die bei meinen Desinfectionsversuchen zahlenmässig gewonnenen Resultate zusammengestellt.

Tabelle D.

Präparat	*a.* Abtödtung trat ein nach $^1/_4$ stündiger Einwirkung bei einem Procentgehalt von	*b.* Abtödtung trat ein bei $^1/_4$ stündiger Einwirkung bei einem Verhältniss von	*c.* Abtödtung trat ein bei zweistündiger Einwirkung bei einem Procentgehalt von	*d.* Abtödtung trat ein bei zweistündiger Einwirkung bei einem Verhältniss von
Salzsäure	0.66	1 : 150	0.40	1 : 250
Schwefelsäure	0.66	1 : 150	0.40	1 : 250
Natronlauge	1.18	1 : 85	0.76	1 : 130
Ammoniak	6.66	1 : 15	4.00	1 : 25
Kohlens. Natron	10.00	1 : 10	6.66	1 : 15
Sublimat	0.066	1 : 1500	0.040	1 : 2500
Sublimat 1 Gewthl. / Lithionchlorid 2 Gewthle.	0.066	1 : 1500	0.036	1 : 2750
Quecksilberoxycyanid	0.066	1 : 1500	0.040	1 : 2500
Goldkaliumcyanid	0.090	1 : 1100	0.066	1 : 1500
Kupfersulfat	0.80	1 : 125	0.50	1 : 200
Eisenchlorid	0.28	1 : 350	0.20	1 : 500
Jodtrichlorid	0.20	1 : 500	0.133	1 : 750
Wasserstoffsuperoxyd	2.86	1 : 35	2.00	1 : 50
Carbolsäure	0.50	1 : 200	0.33	1 : 300
Kresol	0.56	1 : 175	0.40	1 : 250
Lysol	0.50	1 : 200	0.33	1 : 300
Creolin	1.25	1 : 80	0.76	1 : 130
Rotterin	1.53	1 : 65	1.00	1 : 100
Naphthylamin	1.33	1 : 75	0.80	1 : 125
Malachitgrün	0.055	1 : 1800	0.03	1 : 3000
Pyoktanin	0.22	1 : 450	0.14	1 : 700

In den Colonnen *a* und *b* ist ausgerechnet worden, wieviel Gewichtstheile der geprüften Präparate zu 100 Gewichtstheilen gewöhnlicher Nährbouillon zugesetzt werden mussten, um darin befindliche Erysipelstreptokokken bei $^1/_4$- resp. 2stündiger Einwirkungsdauer abzutödten. Die Colonnen *c* und *d* dagegen geben an, bei welchem Gewichtsverhältniss des Präparates zu der Nährbouillon derselbe Erfolg nach $^1/_4$- resp. 2stündiger Einwirkung eintrat.

Für die Desinfectionsversuche durch Hitze habe ich zum Vergleich mit dem auch nach dieser Richtung untersuchten Streptococcus erysipelatis noch einen kurze Ketten bildenden Streptococcus und zwar den Streptococcus brevis 8 mit herangezogen. Für den erstgenannten Streptococcus

ergab sich, dass derselbe seine Entwickelungsfähigkeit in Bouillon einbüsste nach 20minutigem Aufenthalte bei 55° C., nach 10minutigem bei 60° C., nach 5minutigem bei 67° C., während der Streptococcus brevis 8 den besagten Effect erst erkennen liess, wenn er 20 Minuten bei 65°, 10 Minuten bei 70° und 5 Minuten bei 80° C. gehalten war. Also auch hinsichtlich der Widerstandsfähigkeit gegen Hitze verhalten sich die eben genannten Repräsentanten unserer beiden Gruppen von Streptokokken beträchtlich verschieden.

Litteratur-Verzeichniss.

1. Nepveu, *Des bactéries dans l'erysipèle.* Paris 1870.

2. Hüter, *Grundriss der Chirurgie.* 1880.

3. v. Recklinghausen, *Sitzungsberichte der phys.-med. Gesellschaft zu Würzburg.* Sitzung vom 10. Juni 1871.

4. Hüter und Tomasi-Crudeli, Ueber Diphtheritis. *Centralblatt für die medicinischen Wissenschaften.* 1868. S. 531.

5. Nasiloff, Ueber die Diphtheritis. Virchow's *Archiv.* 1870. Bd. I.

6. Oertel, Studien über Diphtheritis. *Bayerisches ärztliches Intelligenzblatt.* 1868. Nr. 31.

7. Koch, *Untersuchungen über die Aetiologie der Wundinfectionskrankheiten.* Leipzig 1878.

8. Derselbe, Zur Untersuchung von pathogenen Mikroorganismen. *Mittheilungen aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt.* 1881. Bd. I. S. 38.

9. Fehleisen, *Verhandlungen der Würzburger medicin. Gesellschaft.* 1881. — *Deutsche Zeitschrift für Chirurgie.* Bd. XVI. — *Aetiologie des Erysipels.* Berlin 1883.

10. Doléris, *La fièvre puerpérale et les organismes inférieurs Thèse.* Paris 1880.

11. Ogston, Ueber Abscesse. *Archiv für klinische Chirurgie.* 1880. Bd. XXV. — Report on microorganis. in surgical diseases. *British med. Journal.* 1881. p. 369.

12. Rosenbach, *Die Mikroorganismen der Wundinfectionskrankheiten des Menschen.* Wiesbaden 1884.

13. Passet, *Untersuchungen über die Aetiologie der eitrigen Phlegmone des Menschen.* Berlin 1885.

14. Garré, Zur Aetiologie acut-eitriger Entzündungen. *Fortschritte der Medicin.* 1885. Nr. 6.

15. Cushing, *Boston Medical and Surgical Journal.* 12. Novbr. 1885.

16. Besser, Die Mikrobien der Pyämie. *Wratsch* 1888. Nr. 19—20. — Die Mikrobien der Septicämie. *Wratsch* 1888. Nr. 20.

17. Schulz, Furunculus im Nacken. *Neurolog. Centralblatt.* 1886. Nr. 18 u. 19.

18. Dunin, Ueber die Ursachen eitriger Entzündungen und Venenthrombosen im Verlaufe des Abdominaltyphus. *Deutsches Archiv für klinische Medicin.* 1886. Bd. XXIX. Heft 3 u. 4.

19. Klebs, *Archiv für experimentelle Pathologie.* Bd. IV. — *Verhandlungen des Congresses für innere Medicin.* Wiesbaden 1883. — *Allgemeine pathol. Aetiologie.* Jena 1887.

20. Löffler, Untersuchungen über die Bedeutung der Mikroorganismen für die Entstehung der Diphtherie beim Menschen. *Mittheilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte.* Bd. II. S. 421.

21. Fränkel und H. Freudenberg, Ueber Secundärinfection beim Scharlach. *Centralblatt für klinische Medicin.* 1885. Nr. 45.

22. Thaon, A propos des Broncho-Pneumonies de l'enfance et de leurs microbes. *Revue de méd.* 10. Décembre 1885. p. 1015.

23. Rasskin, Ueber die Entstehung der wichtigsten Complicationen des Scharlachs. *Wratsch* 1888. Nr. 37—44.

24. Ribbert, *Deutsche medicin. Wochenschrift.* 1890. Nr. 4 u. 15.

25. Finkler, *Ebenda.* 1890. Nr. 5.

26. Friedrich, Untersuchungen über Influenza. *Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte.* 1890.

27. Flügge, *Die Mikroorganismen.* Leipzig 1886.

28. Nicolaier und Guarneri. Göttinger hygien. Institut.

29. Netter, Présence du streptococce pyogène dans la salive de sujets vains. *Bulletin médical.* 1888. II. Nr. 59.

30. Biondi, Die pathogenen Organismen des Speichels. *Zeitschrift für Hygiene.* 1887. Bd. II. S. 194—238.

31. Ernst, A consideration of the bacteria of surgical diseases. *Philadelphia medical Times.* 1886. Octob. 16 and 30.

32. Koch, Ueber Desinfection. *Mittheilungen aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* Bd. I. S. 234.

33. Gärtner u. Plagge, *Verhandlungen d. deutsch. Gesellschaft für Chirurgie.* 1885.

34. Chamberland et Roux, *Comptes rendus.* 1883. T. XCVI. Nr. 15.

35. Behring, Ueber Desinfection, Desinfectionsmittel und Desinfectionsmethoden. *Zeitschrift für Hygiene.* Bd. IX.

36. Doehle, Ueber einen neuen Antagonisten des Milzbrandes. *Kieler Habilitationsschrift.* 1889.

37. Hayek, *Sitzungsberichte d. K. K. Gesellschaft d. Aerzte in Wien.* Nov. 1885.

38. Kitasato und Weyl, *Zeitschrift für Hygiene.* 1890. Bd. VIII. Heft 1. S. 41.

39. Hoffa, *Fortschritte der Medicin.* 1886. Nr. 3. S. 77.

40. Biondi, *Deutsche medicinische Wochenschrift.* 1886. Nr. 8. S. 132.

41. v. Eiselsberg, v. Langenbeck's *Archiv.* Bd. XXXV. Heft 1.

42. Baumgarten, *Lehrbuch der pathologischen Mycologie.* 1890.

43. Kranzfeld, Zur Frage über die Aetiologie acuter Eiterungen. *Inaugural-Dissertation.* St. Petersburg 1886.

44. Hartmann, Ueber die Aetiologie des Erisypelas und des Puerperalfiebers. *Archiv für Hygiene.* 1887. Bd. VII.

45. Roger, Modifications du sérum à la suite de l'erisipèle. *Extrait des comptes rendus des séances de la société de Biologie.* Octobre 1890.

46. Brieger und Fränkel, *Berliner klinische Wochenschrift.* 1890.

47. Behring, Ueber das Zustandekommen der Diphtherie-Immunität und der Tetanus-Immunität bei Thieren. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1890. Nr. 19.

48. Derselbe, Ueber die Bestimmung des antiseptischen Werthes chemischer Präparate. *Ebenda.* 1889. Nr. 41—43.

Thesen.

I.

Bei Carcinom der Portio vaginalis uteri ist die Totalexstirpation des Uterus der hohen Amputation der Portio vorzuziehen.

II.

Bei der Behandlung des Delirium tremens sind die Narkotika nur mit Vorsicht anzuwenden.

III.

Die manuelle Entfernung diphtherischer Membranen aus dem Rachen ist zu unterlassen.

Lebenslauf.

Verfasser dieser Arbeit, Hugo August Walter von Lingelsheim, evangelischer Confession, Sohn des Forstmeisters von Lingelsheim in Bad Wildungen, wurde am 13. Dezember 1866 zu Bad Wildungen geboren. Seine wissenschaftliche Vorbildung erhielt er auf dem Gymnasium zu Korbach im Fürstentum Waldeck, welches er von Ostern 1880 bis Herbst 1886 besuchte und welches er am 2. September 1886 mit dem Zeugnis der Reife verliess. Am 23. October 1886 wurde er in die Königliche medizinisch-chirurgische Akademie für das Militär aufgenommen und genügte vom 1. April bis 30. September 1887 seiner Dienstpflicht mit der Waffe bei der 9. Compagnie, Kaiser Alexander-Garde-Grenadier-Regiment No. 1. Am 25. Juli 1888 bestand er die ärztliche Vorprüfung, am 1. Juli 1890 das Tentamen medicum und am 5. Juli desselben Jahres das Examen rigorosum.

Während seiner Studienzeit besuchte er die Vorlesungen, Kliniken und Kurse der Herren:

Bardeleben, v. Bergmann, du Bois-Reymond, Dilthey, Ewald, Fraentzel, Gerhardt, Gurlt, Gusserow, Hartmann, v. Helmholtz, Hirsch, v. Hofmann, Israel, Koch, Köhler, Kohlstock, Kossel, Kundt, Leuthold, Leyden, Liebreich, Liman, Olshausen, Oppenheim, Overweg, Salkowski, Schultze, Schweigger, Schwendener, Schweninger, Siemerling, Sonnenburg, R. Virchow, Waldeyer, Wittmack.

Allen diesen Herren, seinen hochverehrten Lehrern, spricht Verfasser seinen aufrichtigen Dank aus.